DEC 9 1924
Medical Lib.

ARCHIV
FÜR
MIKROSKOPISCHE ANATOMIE
UND
ENTWICKLUNGSMECHANIK

FORTSETZUNG VON
ROUX'S ARCHIV FÜR ENTWICKLUNGSMECHANIK
UND
SCHULTZE-WALDEYER-HERTWIG'S
ARCHIV FÜR MIKROSKOPISCHE ANATOMIE

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM ROUX †

UNTER MITWIRKUNG VON

H. BRAUS UND H. SPEMANN

103. BAND, 3/4. Heft

MIT 102 TEXTABBILDUNGEN UND 3 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 24. OKTOBER 1924

BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1924

Das Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik der Organismen

steht offen noch nicht publizierten exakten Forschungen sowohl über die mikroskopische Anatomie der Lebewesen wie besonders über die Ursachen aller Lebensgestaltungen einschließlich der Vererbungs- und Variationsforschung.

Das Archiv erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung in zwanglosen einzeln berechneten Heften; mit etwa 40 Bogen wird ein Band abgeschlossen.

Der für diese Zeitschrift berechnete Preis des Heftes gilt nur zur Zeit des Erscheinens. Später tritt eine wesentliche Erhöhung ein.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten, welche nicht mehr als 24 Druckseiten Umfang haben, **100** Sonderabdrücke, von größeren Arbeiten **60** Sonderabdrücke unentgeltlich. Doch bittet die Verlagsbuchhandlung, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiexemplarzahl hinaus bestellte Exemplare werden berechnet. Die Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend ersucht, die Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um spätere unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Die derzeitigen überaus schwierigen Verhältnisse nötigen, in Zukunft **streng auf** die bisher empfohlene aber zumeist nicht berücksichtigte **knappste Fassung** und **größte Sparsamkeit in Abbildungen zu halten.** Nachträgliche Kürzungen sowie Verminderungen der Abbildungen sind sehr mühsam. Bloß das Wichtigste und schwer Beschreibbare bedarf der bildlichen Darstellung. Zugleich wird ersucht, auf bereits in einem der beiden Archive oder in den verbreiteten »Ergebnissen« und Monographien befindliche Literaturverzeichnisse zu verweisen und nur die neuere Literatur genau anzugeben.

Die neuen ungeheuren Portokosten machen es erforderlich, **vor der Einsendung eines Manuskriptes** durch Karte dem Herausgeber die Art des Inhalts (ob auf Kausalität bezüglich, ob experimentell, histogenetisch, einfach formbeschreibend), Umfang in Archiv-Druckseiten, Zahl der Tabellen, Zahl und Art der Abbildungen zu melden und seine Antwort abzuwarten.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an die

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
in Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

Fernsprecher: Amt Kurfürst, 6050—6053. Drahtanschrift: Springerbuch-Berlin
Reichsbank-Giro-Konto u. Deutsche Bank, Berlin, Dep.-Kasse C.
Postscheck-Konten:
für Bezug von Zeitschriften und einzelnen Heften: Berlin Nr. 201 20 Julius Springer, Bezugsabteilung für Zeitschriften;
für Anzeigen, Beilagen und Bücherbezug: Berlin Nr. 118935 Julius Springer.

Die Entwicklung des Parablasts und seine Bedeutung bei Teleostiern nebst der Frage über die Entstehung der Urgeschlechtszellen.

Von

Prof. Leonid Reinhard.

(Kabinett der Vergleichenden Anatomie und Embryologie zu Ekaterinoslaw.)

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Februar 1924.)

Das Interesse zum Problem der Geschlechtsbestimmung nimmt in der Fachliteratur der letzten Jahre wieder merklich zu. Wir haben heutzutage eine Anzahl von Arbeiten, welche sich mit der Bestimmung des Geschlechts vom Gesichtspunkte der Cytologie, Morphogenese und Hybridologie beschäftigen. Bei der cytologischen Stellung der Frage interessiert man sich vorwiegend für den X-Chromosomen, viel weniger Aufmerksamkeit richtet man auf die Frage, wie die Urgeschlechtszellen entstehen. — Außer den klassischen Arbeiten von *Boveri*, Über die Keimbahn bei *Ascaris megalocephala univ.* und solchen von *Häcker*, über *Cyclops*, gibt es ziemlich viel Untersuchungen über die Entstehung der Urgeschlechtszellen, doch genügt alles bis jetzt Gemachte für die Lösung dieser wichtigen Frage noch nicht. Es scheint mir, daß die systematische Untersuchung über die Entstehung der Urgeschlechtszellen bei verschiedenen Klassen und Typen, verbunden mit dem Experiment, viel Licht auf dieses, bis jetzt dunkle Gebiet werfen kann.

Der vorliegende Aufsatz bildet einen Teil meiner monographischen Untersuchung: Über die Anfangsstadien der Entwicklung von *Scardinius erythrophtalmus*.

Ich untersuche hier nur die Entstehung der Urgeschlechtszellen bei den Teleostiern, die Frage von den Ursachen der Bildung dieses oder jenes Geschlechts berühre ich vorläufig nicht.

Die Ereignisse der letzten Jahre verhinderten mich, das von mir gesammelte Material erschöpfend zu bearbeiten. Dazu fehlte es mir manchmal an der in der letzten Zeit erschienenen Literatur.

Das benutzte Material und seine Bearbeitung.

Ich untersuchte die Eier von *Scardinius erythrophalmus* bei verschiedenen Entwicklungsstadien, die ich in der Umgebung von Charkow gesammelt habe. Außerdem habe ich auch verschiedene Stadien studiert, welche ich durch künstliche Befruchtung bekommen habe.

Im letzteren Falle müssen die Schlußfolgerungen mit einigem Vorbehalt gezogen werden, weil man bei der künstlichen Befruchtung aus noch nicht bekannten Ursachen meist verschiedene Abweichungen von der Regel bekommt.

Als Fixiermittel wurden angewandt: die Flüssigkeit von *Flemming*, *Hermann*sche Mischung, die Flüssigkeit von *Debouin* und das Sublimat mit Eisessigsäure. Die zu untersuchenden Eier wurden in Celloidin-Paraffin eingebettet und dann Schnitte von 5—7 μ Dicke gemacht.

Für die Färbung der Schnitte benutzte ich Hämatoxylin (nach *Böhmer*), Hämatoxylin-Eisenalaun (nach *Heidenhain*), Safranin, Paracarmin, Boraxcarmin und außerdem Eosin, Lichtgrün und Bleu de Lyon.

Sämtliche Zeichnungen wurden mit dem Abbeschen Zeichenapparat, Obj. Zeiss, Hom. Immers. 2 mm, Apochr. 3,16 mm, Komp.-Ocul. 2, 4, 6, 8 in der Tischhöhe gemacht.

In den Eiern von Teleostiern kann man bei bestimmtem Entwicklungsmoment eine Protoplasmaschicht unterscheiden, welche zwischen dem Dotter und Blastoderm liegt. Zum erstenmal wurde sie bei *Esox* von *Lereboullet* beobachtet und „feuillet muqueux" benannt. Alle späteren Forscher, welche die Anfangsstadien der Entwicklung von Teleostiern studierten, haben diese Schicht beobachtet und verschieden bezeichnet. So z. B. nennt sie *Virchow* „Dottersyncytium", *Van Bambeke* „Couche intermédiaire", *Klein* und *Hiss* „Parablast", *Agassiz* und *Whitman* „Periblast". Auch den Kernen, welche in dieser Schicht liegen, gibt man verschiedene Namen: „Periblastkerne", „Parablastkerne", „Dotterkerne", „Merocyten", „Freie Kerne". Das Vorhandensein dieser Schicht bei allen Teleostiern und Selachiern, sowie in den meroblastischen Eiern von Reptilien und Vögeln, interessierte viele Forscher, so daß es heutzutage zahlreiche Arbeiten gibt, welche dem Studium dieser Schicht gewidmet sind. Doch ist seine Entwicklung und Bestimmung jetzt noch nicht klargestellt.

Die ganze Literatur zerfällt in zwei Gruppen: 1. Jene Arbeiten, die gegenwärtig nur ein geschichtliches Interesse besitzen, und 2. solche, welche ihre Bedeutung auch heute noch nicht verloren haben, obgleich sie nicht selten einander widersprechen. Zu der ersten Gruppe gehören unter anderem die Arbeiten von *Lereboullet* über die Entwicklung der „feuillet muqueux" und *His* über den „Archiblast und Parablast", in welcher er den „Archiblast" aus den Blastodermzellen und den „Parablast" aus den eingedrungenen Leukocyten herleitet. Dann die Arbeit von *Van Bambeke*, der eine Entstehung der Kerne „par voi endogène" beschreibt, und die Arbeit von *Kupffer* über die „freien Kerne".

Die zweite Gruppe bilden die Arbeiten vieler Forscher, welche in der Embryologie große Verdienste haben, z. B. *Van Beneden*, *Kingsley*,

Brook, *Klein*, *Mac Intosh* und *Prince*. Heutzutage wird die Frage ganz anders gestellt. Alle Beobachter sind darin einig, daß der Parablast sich aus den Blastodermzellen entwickelt. Aber es ist bis jetzt noch strittig, wo und in welchem Moment der Parablast entsteht. Man kann sich hier zwei Fälle vorstellen: entweder entsteht der Parablast beim Anfange der Eifurchung oder er entwickelt sich in den späteren Stadien, bei dem Zusammenfließen der Blastodermzellen mit dem Dotter.

Die Autoren, welche die erste Meinung vertreten, glauben, daß die ersten Furchen und die Zellmembranen nicht bis an den Dotter reichen und sie eine Plasmaschicht zwischen den Blastodermzellen und dem Dotter ungefurcht lassen („intermediäre Schicht", „disque huileux"). Dieser ungefurchte Protoplasmarest bildet den Parablast.

Die zweite Gruppe der Autoren schreibt dem Parablast eine andere Art der Entstehung zu. Nach ihrer Meinung ist das ganze Blastoderm von den ersten Furchen total geteilt. Alle Furchen, von den ersten an, reichen bis zum Dotter. Zwischen den Blastodermzellen und dem Dotter existiert bei allen ersten Stadien eine scharfe Grenze. Der Parablast bildet sich erst später durch das darauffolgende Zusammenfließen der Blastodermzellen mit dem Dotter. Mehrere Autoren beschreiben zwei Arten von Parablast: den peripheren und den zentralen oder subgerminalen Parablast. Beide Parablastarten gehen allmählich ineinander über. Die Ausdrücke „zentral" und „peripher" darf man nur mit Beziehung zur Keimscheibe (Blastodermen) verstehen. Die Autoren streiten auch über die Frage, welcher Parablast früher entsteht, der „zentrale" oder der „periphere".

Einige glauben, daß sich beide Parablastarten gleichzeitig und zusammen bilden. Es scheint mir doch, daß diese Meinungsverschiedenheiten nicht wichtig sind. Viel wichtiger ist es für uns zu wissen, auf welche Art und Weise der Parablast entsteht: mit der ersten Furche oder viel später durch Zusammenfließen der Blastodermzellen mit dem Dotter. — Die Entstehung des Parablasts bei *Scardinius* wurde von meinem Vater *W. Reinhard* (1898) beschrieben.

Aber einige Autoren (*Berg*, *Golowin*) bestreiten die von ihm gewonnenen Resultate, indem sie alles auf eine schlechte Fixierung zurückführen.

Beim Studium der Präparate von *W. Reinhard* habe ich mich überzeugt, daß sie ganz gut fixiert sind. Da ich ein reiches Material besaß, so beschloß ich, die Resultate, welche *W. Reinhard* bekommen hat, nochmals zu prüfen. Dabei habe ich verschiedene Fixierungsmittel angewandt, und sie alle gaben ein und dasselbe Bild, welches mit den *W. Reinhard*schen Resultaten ganz übereinstimmt. Jetzt gehen wir zur Beschreibung der Parablastentstehung bei *Scardinius erythrophtalmus* über.

Die Entstehung des Parablasts bei Scardinius erythrophtalmus.

An anderer Stelle versuchte ich zu zeigen, daß die ersten Furchen bis zum Dotter reichen und zwischen dem Dotter und den Blastodermzellen eine scharfe Grenze vorhanden ist. Nach dem Stadium 32 (Blastomeren) wird das Blastoderm zweischichtig, später drei- und mehrschichtig. Im Resultat bildet sich ein Zellkomplex, welcher auf dem Dotter liegt. Das ist das Moment der Entstehung des Parablasts.

Meines Erachtens bilden sich bei *Scardinius* beide Parablasten: der zentrale und der periphere, fast gleichzeitig. Die oberflächlichsten Zellen schließen sich aneinander und bilden die sogenannte „Deckschicht". Die Randzellen dieser „Deckschicht", welche an den Dotter grenzen, verlieren ihre Membran und fließen mit dem Dotter zusammen. Bei lebenden Objekten kann man eine amöboide Bewegung sehr gut beobachten.

Abb. 1[1]). *P.Z.* eine Blastodermzelle während des Eindringens in den Dotter (*Vit.*). Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 2.

Abb. 2. *P.Z.* eine Blastodermzelle während des Eindringens („sich Eingrabens") in den Dotter (*Vit.*). Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 2.

Darauf verschwinden die Scheidewände der Randzellen, und auch die letzteren fließen miteinander zusammen. Auf diese Weise entsteht der periphere „Parablast" oder „Periblast", wie man ihn wegen seiner peripheren Lage nennt. Die Kerne der Randzellen werden zu Parablastkernen.

In dieser Zeit liegen die Blastodermzellen sehr locker in dem Raume zwischen der „Deckschicht" und dem Dotter. Mehrere von ihnen geben Fortsätze — Pseudopodien — und können sich bewegen. Die untere Schicht jener Zellen, welche an den Dotter grenzen, fängt an, sich in den Dotter „einzugraben" und mit ihm zusammenzufließen.

Ich konnte an verschiedenen Präparaten das allmähliche Eindringen der Zellen in den Dotter gut beobachten. Zuerst bildet sich ein Loch in der Zellenwand, wo diese an den Dotter grenzt. Dieses Loch liegt mehr oder weniger zentral in der Berührungsebene der Zelle mit dem Dotter und wird allmählich größer. Darauf geht das Zellprotoplasma durch dieses Loch in den Dotter über und fließt mit ihm zusammen. Die amöboiden Bewegungen der Blastodermzellen haben auch andere

[1]) Alle Zeichnungen sind mit Zeichenapparat von Abbe gemacht.

Autoren beobachtet, wie *Van Bambeke*, *Ramson*, *Stricker*, *Lereboullet* und *W. Reinhard*. Das Eindringen („Eingraben") der Blastodermzellen in den Dotter ist auf Abb. 1, 2 und 3 dargestellt. Mehrmals habe ich auf demselben Schnitte gleichzeitig zwei, drei und mehr Zellen beobachtet, die sich in den Dotter „eingruben" (eindrangen). Dabei waren alle diese Zellen von Anfang an nicht miteinander verbunden.

Das Zusammenfließen der Zellen kommt in verschiedenen Momenten vor: entweder während des Eindringens der Zelle in den Dotter oder bald darauf.

Meine Beobachtungen bestätigen die Beschreibung, welche *W. Reinhard* gegeben hat. Deshalb kann ich *Berg* und *Golowin* nicht beistimmen. *Golowin* sagt: „*W. Reinhard* läßt die Möglichkeit der Entwicklung des zentralen Parablasts durch „sich eingraben" der Blastodermzellen in den Dotter und ihres Zusammenfließens miteinander zu. Die Abbildungen, welche der Verfasser gegeben hat, zeigen ganz klar, daß er schlecht fixierte Objekte hatte, und die von ihm gezeichneten Parablastzellen nichts anderes sind als abgerissene Stücke der Periblastplatte, welche ich auf den Abb. 3, 4, 5, 6, 11 wiedergegeben habe."

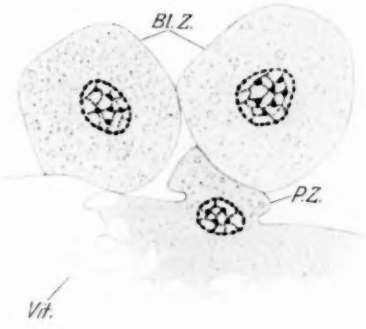


Abb. 3. *Bl.Z.* freie Blastodermzellen; *P.Z.* Blastodermzelle während Zusammenfließen mit dem Dotter (*Vit.*). Zeiss, homog. Imm. 2 mm. Ok. 4.

Wenn ich die Resultate, welche ich selbst bekommen habe, mit solchen von *Golowin* vergleiche, komme ich zur Überzeugung, daß er selbst schlecht fixierte Objekte gehabt hat, und aus diesem Grunde sind seine Zeichnungen für mich nicht überzeugend. Auch *Berg* schreibt die Resultate, welche *W. Reinhard* bekommen hat, der schlechten Fixierung zu: „Das ‚Kriechen' der Zellen und ihre ‚Pseudopodien', welche *W. Reinhard* beschreibt, sind nur das Resultat einer schlechten Fixierung; es scheint, als ob hier die Zellen mit dem Dotter ebenso wie bei *Esox* „zusammenfließen".

Ich schreibe der Fixierung eine sehr große Bedeutung zu und glaube, daß widersprechende Resultate sehr oft von dieser abhängen. Darum habe ich sehr verschiedene Fixiermittel probiert, welche mich überzeugt haben, daß es die Zellbewegung und ihr Zusammenfließen in die Parablastschicht gibt. Weiter scheint es mir, daß meine Beschreibung der Parablastentwicklung bei *Scardinius* mit der von *Berg* bei *Esox* und von anderen Autoren bei Salmonidae übereinstimmt (*Rauber*, *Hoffmann*, *Oellacher*, *Samassa*, *Berent*).

Sobotta beschreibt bei *Belone acus* die Entwicklung des Parablast nebst dem Zusammenfließen der peripherischen Zellen, doch sagt er folgendes: „Man kann am Flächenbild nicht mit Sicherheit entscheiden, ob das Syncytium nur vom Rande gebildet wird, oder ob etwa derselbe Prozeß auch an der unteren Fläche des Keimes stattfindet." *W. Reinhard* sagt, daß seine Beobachtungen denen von *Samassa* über den *Salmo* am nächsten stehen. Dieser drückt sich so aus: „Die Randzellen legen sich der Zwischenschicht breiter an; man kann in günstigen Fällen sehen, wie die Grenze der Zellen gegen die Zwischenschicht zum Teil schon aufgelöst ist, zum Teil noch besteht. Schließlich verschmilzt die Zelle vollständig mit dem am Rande bereits vorhandenen Periblast und der Zwischenschicht." *W. Reinhard* meint, daß der Ausdruck „Zusammenfließen" mit der intermediären Schicht weniger gut ist, als der von *Oellacher* gegebene: „sich eingraben", der das Eindringen der Zellen in den Dotter charakterisiert.

Es ist auch zu erwähnen, daß verschiedene Autoren den Ausdruck „intermediäre Schicht", „couche intermédiaire", in verschiedenem Sinne gebrauchen. Einige verstehen darunter eine Protoplasmaschicht, welche sich immer zwischen dem Dotter und dem Blastoderm während der Furchung bildet (der sogenannte primäre Parablast). Andere beschrieben unter diesem Namen eine intermediäre Schicht, welche zwischen dem Blastoderm und dem Dotter liegt, aber identifizieren sie in keiner Weise mit dem Parablast. Nach *Berg* besteht diese Schicht aus der Mischung von Fetttropfen mit etwas Protoplasma und enthält fast keine Dotterkörnchen. „Von der Seite des Dotters", sagt er, „hat diese Schicht keine scharfe Grenze, und mittels dünner Verzweigungen geht sie allmählich in den letzten über. Unter Randzellen verschwindet diese Schicht ganz. Von der Blastodermseite ist diese Schicht von Anfang an mit einer Linie scharf abgegrenzt, welche von Hämatoxylin nach *Heidenhain* intensiv schwarz wird."

Oben habe ich ein Zitat aus *Samassas* Arbeit angeführt, um seine Vorstellung von der Entstehung des Parablasts ganz genau wiederzugeben.

Sobotta sagt sehr bestimmt, daß bei allen Teleostiern der Dotter gegen das Blastoderm scharf abgegrenzt ist. Anderer Meinung ist *Kopsch*, der in seiner letzten mir bekannten Arbeit zu ganz anderen Resultaten kommt, nämlich:

I. Blastomeren bilden bis zur fünften (V) Teilung miteinander und mit dem Protoplasma, welches auf dem Dotter liegt, ein Syncytium.

II. Aus diesem Syncytium beginnen am Ende der Teilung V die Furchungszellen sich abzuschnüren (abzufurchen).

III. Abfurchung der Zellen endigt am Ende der Teilung XI. Zellen, welche im Syncytium entstanden sind, bleiben dort. „Diastema" ver-

schwinden. Das Syncytium bildet sich in Plasmodium um, da sich ein Dottersackentoblast entwickelt.

IV. Die Stelle, wo sich Dottersackentoblast entwickelt, liegt am Rande und auf der exzentrisch liegenden Unterfläche der Keimscheibe.

Die Beobachtungen von *Kopsch* sind sehr sorgfältig gemacht und vereinbaren sich mit denen anderer Gelehrten. Die Bestimmung der Stadien setzte man nebst der Kernzählung fest. Und doch, obgleich die Methode ganz genau zu sein scheint, wofür schon der Name des Verfassers spricht, bin ich nach dem Studium der *Kopsch*schen Abbildungen zu dem Schlusse gekommen, daß seine Präparate artefaktähnlich sind. Davon überzeugte mich das Vorhandensein von „Diastema" und „Plasmocheren", welche ich nur auf den anormal fixierten Präparaten fand (ausführlicher davon in meiner anderen Arbeit). Außerdem hat meines Erachtens der Umstand eine große Bedeutung, daß die ganze Arbeit von *Kopsch* nur auf dem Material mit künstlicher Befruchtung ausgeführt war. Zur Begründung meiner Mutmaßung kann ich mich auf *Morgans* Ansicht berufen, welcher sagt, daß das Verspäten der Befruchtung auf 10 Minuten zu großer Abnormität führt.

Abfurchung.

Wie wir gesehen haben, stellt der Parablast am Ende seiner Entwicklung eine verhältnismäßig dichte Plasmaschicht mit mehreren Kernen in den zentralen und peripheren Bezirken dar. Der Parablast grenzt in dieser Weise die Blastodermzellen von dem Dotter ab. Außer der Frage über die Entwicklung des Parablasts, welche so strittig und verwickelt ist, gibt es eine andere über die sogenannte Abfurchung der Zellen. Viele verstehen unter dem Ausdruck „Abfurchung" die Absonderung der Zellen vom Parablast (*M. Kowalewski, Hoffmann, Berent, Berg, Kopsch*). Nach *Berg* teilen sich bei *Esox* die Parablastkerne während der Parablastentwicklung mitotisch zu und die Achse der Furchungsspindel liegt senkrecht oder fast senkrecht zur Grenzebene zwischen den Blastodermzellen und dem Dotter. Während der darauffolgenden Teilung der Furchungsspindel geht ein Kern in den Parablast über, der andere aber bildet mit einem Protoplasmabezirke eine Zelle, welche zu den Blastodermzellen hinzukommt. Weiter sagt er folgendes: „Es ist kein Zweifel, daß der Parablast auf allen oben beschriebenen Stadien die Zellen ins Blastoderm abfurcht, und das kann man auf den Zeichnungen 10, 11, 12, 14 sehen. Solche zellartige Bezirke sind allen anderen Blastodermzellen gleich (ausgenommen den Zellwänden), deshalb darf man auch vom theoretischen Standpunkte aus diese Abfurchung nicht verneinen." *Berent* hat schon früher eine anfangs mitotische, später amitotische Absonderung, d. h. Abfurchung der Zellen vom Parablast zur Zeit seiner Entwicklung beschrieben. Die

Resultate, welche *Berent* bekommen hat, stimmen vollständig mit denjenigen von *Hoffmann* überein, der ebenso eine mitotische als eine amitotische Abfurchung der Zellen vom Parablast beobachtet hat.

Andere Autoren (*Golowin*, *W. Reinhard*) verneinen die Abfurchung der Zellen vom Parablast ganz. Auf Grund meiner eigenen Beobachtungen und aus deren Vergleichen mit den Ergebnissen anderer Forscher (*Berg*, *Berent*, *Hoffmann*, *Kopsch*), komme ich zu ganz entgegengesetzten Schlüssen. So habe ich z. B. auf einem Präparat eine Blastodermzelle im Moment ihres „Eingrabens" in den Dotter beobachtet. Der Kern dieser Zelle befand sich im Ruhestadium, aber man konnte an den Polen die Entwicklung der Spindel sehen.

Auf Abb. 2 ist eine andere Zelle während ihres „Eingrabens" in den Dotter abgebildet. Aber der Kern dieser Zelle befindet sich im Moment der Teilung, weil der Prozeß des „Eingrabens" und des darauffolgenden Zusammenfließens der Zellen während ihrer mitotischen Teilung stattfindet. Nach meiner Meinung müssen beide Kerne, der obere und der untere, in den Dotter übergehen, weil es hier keine Abfurchung der Zellen vom Parablast gibt. Meine Zeichnungen sind denjenigen von *Berg* sehr ähnlich, doch ist die Deutung, welche ich dieser Erscheinung gebe, eine andere.

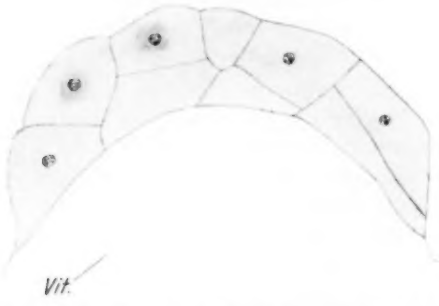


Abb. 4. Zellfurchung. Stad.: 32-(Blastomeren). *Vit.* Dotter; Parablast ist noch nicht vorhanden. Zeiss, Ap. 16 mm, Ok. 6.

Zur Bestätigung meiner Meinung, daß hier nicht eine Abfurchung vorhanden ist, sondern ein „Sicheingraben" der Zellen in den Dotter, und daß hier deren Zusammenfließen miteinander stattfindet, führe ich Abb. 3 an, wo eine Zelle abgebildet ist, in der der Kern in den unteren Teil schon übergegangen ist. Dieser untere Teil des Protoplasmas ist schon mit dem Dotter zusammengeflossen. Der obere Teil des Protoplasmas stellt einen Hügel dar, welcher auf dem Parablast sitzt.

Hoffmann gibt Abbildungen, welche den meinen ähnlich sind, und deutet den Prozeß als „Nachfurchung" (Abfurchung).

Mir ist es ganz klar, daß in diesem Moment bei *Scardinius* keine Abfurchung stattfindet, weil der Parablast noch nicht existiert, sondern nur in „statu nascendi" ist. Zum Beweis, daß bei *Scardinius* auf diesem Stadium der Parablast wirklich noch nicht existiert, habe ich a. a. O. die Abbildungen veröffentlicht, welche den Verlauf der Furchung der Eizelle von zwei Blastomeren an bis zum letzten Stadium illustrieren.

z. B. Abb. 4, T. 32 (Blastomeren). Sie sind, meines Erachtens, ganz überzeugend. — Die freie Entwicklung der Zellen in dem Parablast, welche *Henneguy* bei *Gasterosteus* und *Berg* bei *Esox* beschrieben haben, habe ich auf diesem Stadium noch nicht beobachtet.

Nun ein paar Worte über das Vorhandensein der Kerne in dem Parablast. Wie wir schon gesehen haben, können die Kerne der Zellen, welche sich in den Dotter eingraben und miteinander zusammenfließen, entweder im Ruhestadium oder im Teilungszustande sein. Diese Fähigkeit zur mitotischen Teilung bewahren die Kerne auch einige Zeit nach der Entwicklung des Parablasts. Darauf vermindert sich die Mitosenzahl. Die Kerne vergrößern sich und bewahren weiter nur die Fähigkeit zur direkten, amitotischen Teilung.

Auf Grund meiner eigenen Beobachtungen und der vorhandenen Literatur über die Entwicklung des Parablasts, kann ich meine Anschauung folgendermaßen zusammenfassen.

1. Die ersten Furchen und Scheidewände teilen das Blastoderm des Eies vollkommen und reichen bis zum Dotter.

2. Bis zum 32-Blastomerenstadium bleibt das Blastoderm einschichtig.

3. Während der Umwandlung des 32-Blastomerenstadiums in das 64-Blastomerenstadium wird das Blastoderm zweischichtig.

4. Der Parablast bildet sich sehr spät und nur in dem Moment, in welchem das Blastoderm aus mehren Zellenschichten besteht.

5. Der Parablast bildet sich durch das darauffolgende Zusammenfließen der Blastodermzellen mit dem Dotter und miteinander.

6. Der periphere und der zentrale Parablast entstehen fast gleichzeitig und unterscheiden sich voneinander nur der Lage nach.

7. Die Abfurchung oder Nachfurchung ist während der Parablastentwicklung nicht vorhanden.

8. Die Parablastkerne bewahren ihre Fähigkeit zur mitotischen Vermehrung einige Zeit nach ihrer Entwicklung; dann fangen die Kerne an stark zu wachsen und teilen sich nur direkt (amitotisch).

Die Bedeutung des Parablasts.

Wenn schon die Frage nach der Entstehung des Parablasts so strittig ist, so herrscht eine große Meinungsverschiedenheit auch in bezug auf seine Bedeutung. Heutzutage stimmen fast alle in der Beurteilung der physiologischen Bedeutung des Parablasts überein. Man nimmt an, daß der Parablast eine Rolle bei der Verdauung des Dotters und in der Ernährung der Zellen spielt. Es gibt wirklich verschiedene Tatsachen, welche diese Annahme begründen und namentlich die große Zahl der Parablastkerne, ihre starke Vergrößerung, Teilung, Anhäufung in den Stellen der intensiven Fähigkeit und ihre verschiedenen physiologischen Zustände.

Die andere Frage aber, ob nicht der Parablast an der Entwicklung des Embryos teilnimmt, ruft großen Streit hervor. Eine ziemlich große Zahl von Gelehrten verneint die Beteiligung des Parablasts bei der Keimentwicklung gänzlich. Zu nennen sind: *Oellacher*, *Agassiz* and *Whitman*, *Goronowitsch*, *W. Kowalewski*, *Sobotta*, *Wenkenbach*, *Henneguy*, *Wilson*, *Ziegler*, *Wischow*, *Golowin*, *Berg*. Der zuletzt erwähnte sagt, daß nur der amitotische Parablast bei *Esox* keinen Anteil an der Keimentwicklung nimmt. Was aber den mitotischen Parablast anbetrifft, so meint er, daß die Zellen, welche sich von ihm absondern, in allen Keimblättern an der Keimentwicklung teilnehmen und daß sie den Blastodermzellen ganz ähnlich sind. In dieser letzteren Hinsicht stehen *Bergs* Ansichten denen von *Berent* sehr nah, wie es aus dem folgenden Zitat ersichtlich ist: „Der Parablast, eine mit der Keimscheibe zusammenhängende protoplasmatische Lage, die vom Dotter während der Furchung doch weiteren Zufluß erhält, gibt anfangs durch indirekte, dann durch direkte Kernteilung dem Blastoderm Zellen ab, welche aber in keinem genetischen Zusammenhang mit irgendeinem Blatte stehen, vielmehr in die Bildung der ganzen Keimscheibe aller Keimblätter einbezogen werden."

Andere, wie *Lereboullet*, *Mac Intosh* and *Prince*, *Kupffer*, *Owsianikow*, *Brook*, *Van Bambeke*, *Hoffmann*, *Van Beneden*, *W. Reinhard*, *Cunningham*, *Lwoff*, *Hiss* u. a., sprechen sich entschieden für die Annahme aus, daß der Parablast an der Entwicklung teilnimmt. Wenn *Lereboullet*, *Mac Intosh* and *Prince*, *Kupffer* und *Owsianikow* das mit Vorbehalt annehmen, so leitet *Van Beneden* das Entoderm entschieden aus dem Parablast her. Aber es ist ihm nicht gelungen, alle Stadien dieses Prozesses zu verfolgen. — *Berent* und *Lwoff* leiten das ganze Entoderm, ebenso wie einen Teil von Mesoderm und Hepar vom Parablast ab. Diesen Autoren steht sehr nahe *Van Bambeke*, welcher das Entoderm ebenso aus dem Parablast herführt.

Hiss, *Ryder*, *Gensch* leiten aus dem Parablast das Blut her. Endlich ist *W. Reinhard* beim Studium der Entwicklung von *Leuciscus* (*Scardinius*) zu dem Schlusse gekommen, daß der Parablast nicht anderes ist als der auf besondere Weise umgebildete „primäre Entoblast". Diesem primären Entoblast schreibt er die Bildung des „sekundären Entoblasts", des sogenannten Entoderms zu, das den Darm bildet. Die Zellen, welche sich aus dem Parablast bilden, beteiligen sich nach seiner Meinung an der Bildung der Kupfferschen Blase in solcher Weise. Einige Zeit nach der Bildung der Kupfferschen Blase entwickeln sich in dem Parablast große Zellen — Riesenzellen. Die Kupffersche Blase bildet sich auf Kosten der sich aus dem Parablast differenzierenden Zellen. Die Differenzierung geht weiter auf der unteren Fläche der Kupfferschen Blase vor, wo die letztere dem Parablast anliegt. Die

Zellen, welche die Höhlung der Blase umgeben, vermehren sich rasch und verbreiten sich auf der unteren Fläche des Keimes zwischen der Mesoblastschicht und dem Periblast (= Parablast).

Meine eigenen Beobachtungen wurden auf demselben Objekt, *Scardinius erythrophtalmus*, gemacht. Doch komme ich zu ganz entgegengesetzten Schlußfolgerungen. Der „primäre Hypoblast" („primitive Hypoblast" nach *Wilson*) bildet sich bei *Scardinius* mittelst der Einstülpung und Spaltung (Invagination und Delamination). Der „primäre Hypoblast" gibt ebenso den Anfang des Mesoderms, welches das Entoderm durch die Zellmigration bildet. Das letztere entwickelt sich durch die Zusammenfügung dieser lockeren, migrierenden Zellen und durch die sog. „Unterwachsung" (*O. Hertwigs* Ausdruck). Ich stimme somit jenen Beobachtern, welche die Teilnehmung des Parablasts bei der Keimblätterentwicklung verneinen, bei.

Doch komme ich auf Grund meiner Beobachtungen zu dem Schlusse, daß der Parablast nicht nur die Ernährungsfunktion bei den Blastodermzellen trägt. Während der Furchung der Zellen und der Entstehung des Parablasts, bilden sich die Zellen der oberen Schicht, der sog. „Deckschicht", durch die Selbstteilung. Später, nachdem die Entwicklung des Parablasts zu Ende ist, bilden sich die neuen Zellen der Deckschicht sowohl durch Selbstteilung als durch die Abspaltung vom Parablast (ausführlicher an anderer Stelle).

Weiter ist es mir gelungen, die Ergebnisse, welche *W. Reinhard* in bezug auf die Entwicklung der Riesenzellen bekommen hat, zu bestätigen. Ich beobachtete diese Zellen sowohl im Moment ihrer Entstehung, als auch während der Bewegung zwischen verschiedenen Keimblättern.

Die Entwicklung der Riesenzellen.

Wenn ich die Abfurchung der Zellen vom Parablast während seiner Entstehung verneine, so bin ich überzeugt, daß die Riesenzellen erst später von ihm sich abspalten können. Bei der Beobachtung der Bildung von Riesenzellen aus dem Parablast waren diese Zellen von mir zuerst in einem Stadium gefunden, für welches ich die Bezeichnung: „Stadium des Dreiviertel-Umwachsens" des Dotters vorschlagen möchte.

Von dem Moment ab findet man die Riesenzellen auf allen Stadien bis zur Entstehung des Nervensystems, Chorda, Somiten, Seitenplatten, Wolffscher Gänge und Gonaden.

Die Riesenzellen sind, wie schon ihr Name sagt, viel größer als andere gewöhnliche „normale" Blastodermzellen. Was die Kerngröße betrifft, so hängt sie von der Größe der Zelle ab. Das Diameter der Riesenzelle auf Abb. 5 und 6 erscheint dreimal größer als bei den gewöhnlichen. So ist das Diameter der Riesenzelle = 26,25 μ, der gewöhnlichen Zelle

= 8,75 μ, und das Diameter des Kernes der Riesenzelle = 15,12 μ, desjenigen der gewöhnlichen Zelle = 5,17 μ.

Doch bleibt die Relation zwischen der Größe der Riesenzellen und der gewöhnlichen nicht konstant und verändert sich beim Übergang

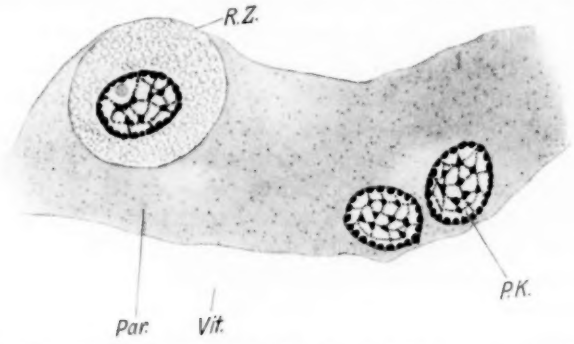


Abb. 5. Die Entstehung der Riesenzellen in dem Parablast; *R.Z.* Riesenzelle; *Par.* Parablast; *P.K.* Parablastkerne; *Vit.* Dotter. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 6.

eines Stadiums in das andere. Es ist ganz verständlich, daß sich die Zellen bis zu einem bestimmten Stadium verkleinern. Dann aber vergrößern sich einige von ihnen wiederum und fangen sich zu differenzieren an.

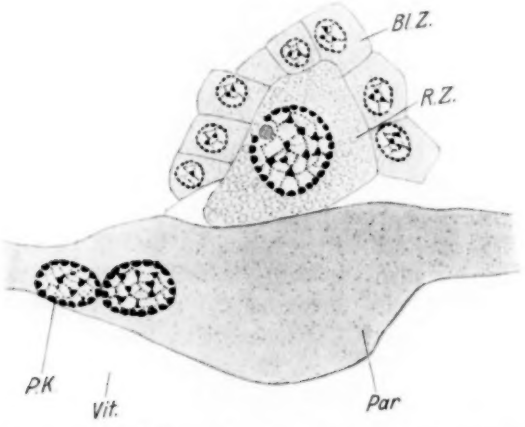


Abb. 6. *B.Z.* Blastodermzelle; *R.Z.* Riesenzelle; *Par.* Parablast; *P.K.* Parablastkerne; *Vit.* Dotter. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Die Beobachtung der Riesenzellen erlaubt deren eigentümliche Struktur zu erkennen, welche von der Struktur der gewöhnlichen Zellen abweicht. Bei der Eisenhämatoxylinfärbung konnte ich den Chondriosomalapparat sehen. Andere spezielle Färbungen, die man für Chon-

driosomen gebraucht, konnte ich infolge des Mangels an Chemikalien nicht probieren. Was den Kern der Riesenzelle betrifft, so unterscheidet er sich von den Normalkernen nicht nur durch seine Größe, sondern auch durch seine Struktur. Nach Größe, Form und Struktur sind die Kerne der Riesenzellen den Parablastkernen sehr ähnlich. Das kann man auf Abb. 5 und 6 sehen. Wenn wir die Abb. 5 und 6 vergleichen, wird es ganz klar, daß die Riesenzellen aus dem Parablast entstanden sind. Ich besitze auch Präparate, welche zeigen, daß die Riesenzellen zuweilen nicht im Innern des Parablasts entstehen, sondern sich von ihm abspalten (Abb. 7).

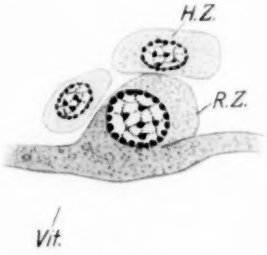


Abb. 7.

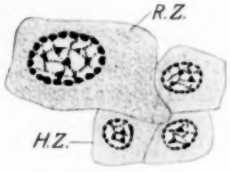


Abb. 8.

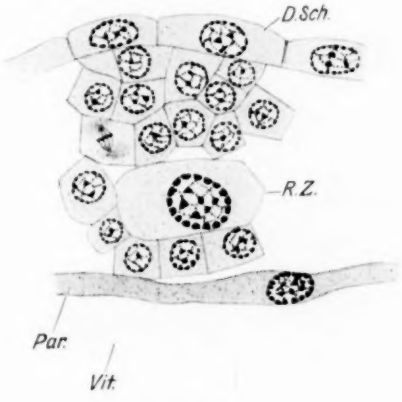


Abb. 9.

Abb. 7. *R.Z.* Absonderung der Riesenzelle vom Parablast; *H.Z.* Hypoblastzelle; *Par.* Parablast; *Vit.* Dotter. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Abb. 8. *R.Z.* Riesenzelle während der Bewegung zwischen den Keimblättern. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Abb. 9. *D.sch.* Deckschicht; *R.Z.* Riesenzelle. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Abb. 8 und 9 stellen die Riesenzelle im Moment ihrer Bewegung zwischen den Blastodermzellen vor. Beim Studium der Präparatserien kann man sehen, daß die Riesenzellen den Parablast verlassen und in den „primären Hypoblast" („primitives Hypoblast") einwandern. Nach der Entwicklung des Mesoderms bleiben die Riesenzellen zwischen seinen Zellen liegen. Beim Studium der verschiedenen Präparate habe ich mich überzeugt, daß die Riesenzellen eine Fähigkeit zur amöboiden Selbstbewegung haben und aus einem Keimblatt in das andere einwandern können. Ich beobachtete auch, daß die Riesenzellen während der verschiedenen Entwicklungsstadien vom Dotter sich absondern. Auf den späteren Stadien, in denen wir schon das Nervensystem während der Bildung des Kopfgehirns beobachten, auch Chorda, Ursegmente

und Seitenplatten finden, fangen die Riesenzellen an der Grenze zwischen den Somiten (Ursegmenten) und den Seitenplatten an, sich zu sammeln.

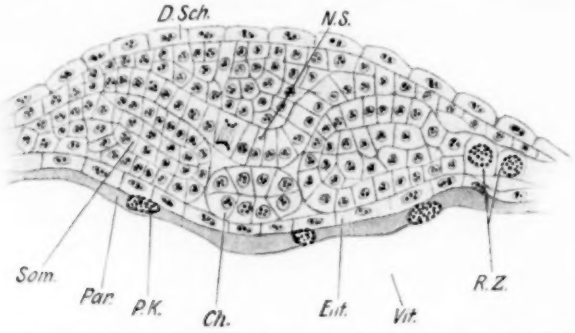


Abb. 10. Stadium der Differenzierung des Nervensystems, der Somiten, Seitenplatten usw. *D.sch.* Deckschicht; *N.S.* Nervensystem; *Som.* Somit; *Ch.* Chorda; *R.Z.* zwei Riesenzellen; *Ent.* Entoderm; *Par.* Parablast mit Parablastkernen *P.K.*; *Vit.* Dotter. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 2.

Das geht ganz an der Stelle vor sich, wo ein wenig später Gonotom und Nephrotom sich entwickeln. Auf Abb. 10 können wir das Gesagte sehen.

Das Nervensystem ist auf diesem Schnitte noch wenig differenziert. Chorda und Entoderm sind ganz abgesondert. Rechts und links von der Chorda liegen die Ursegmente. Auf Abb. 10 können wir zwei Riesenzellen sehen, welche das Ursegment von der Seitenplatte abteilen. Noch spätere Stadien zeigen uns, daß die Riesenzellen in der Nähe des Urnierenganges liegen, wo nach einiger Zeit die Geschlechtsdrüsen sich entwikkeln. Dazu Abb. 11.

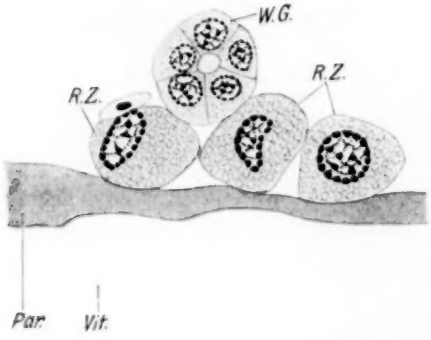


Abb. 11. Anfangsstadium der Entwicklung der Geschlechtsdrüsen; *W.G.* Wolffscher Gang; *R.Z.* drei Riesenzellen; *Par.* Parablast; *Vit.* Dotter. Zeiss, homog. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Die Entwicklung der Urgeschlechtszellen.

Wie wir schon gesehen haben, sind mehrere Verfasser der Teilnahme des Parablasts in der Keimentwicklung abgeneigt. Sie glauben, daß alle Zellen, welche sich von dem Parablast amitotisch absondern, degenerativ sind. So kritisiert *Berg* die Ansicht von *Hoffmann*, welcher meint, daß die Zellen vom Parablast anfangs mitotisch, später amitotisch sich absondern und in das Blastoderm einwandern. Nach *Hoffmanns* Mei-

nung können diese Zellen sich wieder mitotisch teilen. „Dieser Prozeß", sagt *Berg*, „kann auch nicht vom theoretischen Gesichtspunkte aus existieren. Amitotische Teilung der Zelle ist ein Zeichen ihres nahen Todes. Bei *Esox* existiert die Absonderung der Zellen vom amitotischen Parablast nicht." Dasselbe haben noch früher *Ziegler* und *Golowin* geschrieben. Nach ihrer Meinung können die Kerne, welche sich zu fragmentieren angefangen haben, sich nicht wieder mitotisch teilen. Ich glaube, daß die amitotische Teilung der Parablastkerne keinen degenerativen Prozeß bildet, wie es *Ziegler* und *Golowin* darstellen. Noch weniger kann man hier von dem nahen Tode der Zellen im Sinne von *Berg* sprechen.

Meines Erachtens stellt die amitotische Teilung der Parablastkerne nur eine Anpassung zu einer bestimmten physiologischen Arbeit vor. Auf diese Weise glaube ich, daß die Entstehung der Riesenzellen vom Parablast kein Zeugnis ihrer Degeneration ist, und daß sie sich später wieder mitotisch ganz normal teilen können.

Es ist schon vor langer Zeit festgestellt, daß die Geschlechtsdrüsen der Wirbeltiere aus dem Eepithel der Leibeshöhle durch die paarigen Geschlechtsfalten entstehen.

Also entwickeln sich die Gonaden bei den Fischen auf dem indifferenten Stadium als zwei paarige Streifen des Epithels der Leibeshöhle (Keimepithel nach *Waldeyer*). Doch ist es strittig, wie und in welcher Art die Urgeschlechtszellen entstehen. Entwickeln sie sich aus dem Epithel der Leibeshöhle in situ, oder gibt das letzte nur den Anfang zur Entwicklung der Bindegewebszellen? In diesem Falle müssen die Urgeschlechtszellen ein anderes Herkommen — sui generis — haben.

Diese Fragen sind schon vor langer Zeit gestellt, wurden aber bis jetzt nicht gelöst, obgleich sie eine große theoretische Bedeutung haben.

Bei den verschiedenen Tieren entwickeln sich die Gonaden an ganz bestimmten Stellen, bei einigen niederen Metazoen aber finden wir keine solche bestimmte Lokalisation der Geschlechtszellen. Außerdem kommen die Urgeschlechtszellen bei den verschiegenen Klassen und Ordnungen eben desselben Typus nicht selten aus den verschiedenen Keimblättern hervor. So z. B. entwickeln sich die Geschlechtszellen in dem Typus Coelenterata bei *Hydrozoa* aus Ektoderm, bei *Scyphozoa* aus Entoderm.

Noch am Ende des 19. Jahrhunderts sind einige Arbeiten erschienen, welche zeigten, daß bei den verschiedenen Insekten die Geschlechtszellen vor der Bildung der Keimblätter hervorkommen (*Robin*, *Weismann*, *Metschnikow*). Doch konnte man während langer Zeit in der Fachliteratur keinen Hinweis auf diese Arbeiten finden.

Zehn Jahre später hat *Bütschli* entdeckt, daß bei *Sagitta* die Geschlechtszellen vor der Entwicklung der Gastrula entstehen. Heutzutage kennen wir mehrere Fakten der frühzeitigen Entstehung der Urgeschlechtszellen bei den Wirbellosen, sowohl als auch bei den Wirbeltieren.

Was die Wirbellosen betrifft, so war die frühzeitige Entwicklung der Urgeschlechtszellen bei den folgenden Typen beschrieben: *Arthropoden*: Insekten (Aphidae, *Forficula*, *Periplaneta*), Arachnoidea (*Phalangium*, *Euscorpius*), Crustacea (*Lernea*, *Moina*, *Leptodora*, *Cyclops*), *Mollusca* (*Loligo*), *Vermes* (*Sagitta*, *Trematodes*, *Nematodes* [*Ascaris*]). *Porifera*.

Sehr interessante und wichtige Ergebnisse haben *Boveri* bei *Ascaris megalocephala* und *Häcker* bei *Cyclops*-Arten beschrieben. Die Entwicklung der Urgeschlechtszellen kommt hier im Stadium der Zweiteilung vor. — In der Literatur finden wir auch die Beschreibung der frühzeitigen Entstehung der Urgeschlechtszellen bei den Wirbeltieren: Pisces, Amphibia, Reptilia, Aves und Mammalia. Hier werden wir besonders von der Literatur über Entstehung der Urgeschlechtszellen bei den Fischen sprechen.

Nussbaum hat noch im Jahre 1880 eine frühzeitige Entstehung der Urgeschlechtszellen bei Vertebraten (Pisces, Amphibia) beschrieben. Später hat *Eigenmann* (1897) bei *Cymatogaster agregator* die Urgeschlechtszellen im 32-Blastomerenstadium gefunden. Er meint, daß diese Geschlechtszellen sui generis sind und daß sie erst später an die bestimmte Stelle kommen.

Wheeler (1900) bei *Petromyzon*, *Balfour*, *Rückert*, *Rabl* und *Beard* (1900) bei den Selachiern haben auch eine frühzeitige Entstehung der Urgeschlechtszellen beschrieben. *Felix*[1]) meint, daß die Urgeschlechtszellen bei den verschiedenen Teleostiern in sehr verschiedener Zeit hervorkommen. Auf dieser Grundlage teilt er die Teleostier in zwei Gruppen ein. In der ersten entstehen die Geschlechtszellen während der Embryonalentwicklung, in der zweiten erst später, nach der Beendigung der Embryonalentwicklung; z. B. gehören zur ersten Gruppe: *Zoarces*, *Salmo*, *Perca*; zur zweiten die meisten Cypriniden (*Rhodeus*).

Rückert beschreibt die Urgeschlechtszellen („Ureier", „primitive Ova") im ventralen Abschnitte des Somiten (sogenanntes Gonotom).

Ebenso findet *Rabl* die Urgeschlechtszellen an derselben Stelle.

In letzter Zeit sind viele Arbeiten über das frühzeitige Vorkommen der Urgeschlechtszellen bei den verschiedenen Vertebraten erschienen (*Axolote*, *Chrysemys*, *Rana pipiens*, *Phrynosoma*, einige Mammalia und Aves).

Am Ende kommen wir zu den Schlußfolgerungen:

1. Die frühzeitige Entstehung der Urgeschlechtszellen kann man sehr oft sowohl bei den Wirbellosen als auch bei den Wirbeltieren beobachten.

2. Bei mehreren Tieren entstehen die Urgeschlechtszellen vor der Entwicklung der Keimblätter, zuweilen während der Furchung.

3. Die frühzeitige Entstehung der Urgeschlechtszellen ist für einige aus Cyclostomata, Selachii, Teleostei bestimmt.

[1]) Siehe *Hertwigs* Handbuch.

Wenn wir heute die Frage über die frühzeitige Entwicklung der Geschlechtszellen beziehungsweise einiger Teleostier ganz bestimmt lösen können, so ist es für uns ebenso ungewiß, woher diese Urgeschlechtszellen kommen.

Bei der Untersuchung der verschiedenen Entwicklungsstadien von *Scardinius* habe ich die Riesenzellen, wie es oben beschrieben ist, gefunden. Sie interessierten mich sehr und deshalb beobachtete ich ihre Bildung, Bewegung und Verwandlung. Diese Riesenzellen gleichen denjenigen, welche *W. Reinhard* auch bei *Scardinius* beschrieben hat. Meines Erachtens stellen diese Riesenzellen die Urgeschlechtszellen vor. Sie sondern sich, wie wir schon oben gesehen haben, vom Parablast ab, bewegen sich amöboid zwischen den Keimblättern und sammeln sich im Mesoderm zwischen den Somiten (Ursegmenten) und den Seitenplatten in einem Bezirke, welchen man Gonotom nennt. Später verwandeln sich diese Riesenzellen, d. h. Urgeschlechtszellen, bei der Entwicklung der Geschlechtsdrüsen in Oogonien oder Spermatogonien.

Also erscheint vor uns die Frage: Auf welche Art und Weise entsteht dieses oder jenes Geschlecht?

Die schwierigen Arbeitsbedingungen haben mir nicht erlaubt, die Frage zu lösen, ob die Urgeschlechtszellen der verschiedenen Embryonen in der Beziehung des Geschlechts einander gleichen. Mit anderen Worten, es ist der äußere und der innere geschlechtsindifferente Zustand eben dasselbe. — Wenn die Urgeschlechtszellen aller Embryonen geschlechtlich indifferent sind und einander gleichen, so kann man nur epigame Geschlechtsbestimmung erwarten. Wenn aber die Urgeschlechtszellen der verschiedenen Embryonen von Anfang an verschieden sind und verschiedene Geschlechtsanlagen haben, so müssen wir an eine progame oder syngame Geschlechtsbestimmung denken.

Die Arbeiten von *Boveri* über *Ascaris* und von *Häcker* über *Cyclops* zeigen, daß die Urgeschlechtszellen auf dem 2-Blastomerenstadium sich absondern. Es gibt hier eine erbungleiche Teilung im Sinne von *Weismann*, und wir sehen eine echte Keimbahn.

Wenn auch bei anderen Tieren die Geschlechtszellen sich auf dem 2-Blastomerenstadium entwickeln, so müssen wir glauben, daß die erbungleiche Teilung im Sinne von *Weismann* existiert. Diese Frage interessierte mich sehr, und ich studierte deshalb ganz genau die ersten Furchungsstadien (2, 4, 8, 16, 32, 64 . . .), doch konnte ich nirgends während der Furchung die Urgeschlechtszellen finden. Die letzten kommen erst später vor und bilden sich aus dem Parablast.

Diese Ergebnisse zeigen, daß jene Verfasser recht haben, welche meinen, daß die erbgleiche Teilung der Anlagen bei der Furchung des Eies existiert.

Endlich kommen wir zu folgenden Schlüssen.

Schlußfolgerungen.

1. Der Parablast bildet sich bei *Scardinius* durch nachfolgendes Zusammenfließen der Blastodermzellen miteinander und mit dem Dotter.

2. Nach Beendigung der Furchung und der Entwicklung des Parablasts sondern sich vom Parablast während einer bestimmten Zeit die Riesenzellen ab.

3. Die Riesenzellen können sich amöboid bewegen und in das Mesoderm übergehen.

4. Die Riesenzellen sammeln sich an der Grenze zwischen den Somiten (Ursegmenten) und den Seitenplatten in einem Bezirke, welchen man „Gonotom" nennt.

5. Die Riesenzellen bilden die Urgeschlechtszellen.

6. Die Keimbahn, welche bei *Ascaris* und *Cyclops* beschrieben ist, existiert bei *Scardinius* nicht.

Literatur.

I

Die meiste alte Literatur kann man in den Arbeiten von *Wilson* und *Kopsch* finden.

Wilson: The Embryology of the Sea Bass. Extr. from the Bull. of the U. S. A. F. Comm. 9. 1891. — *Kopsch:* Die Entstehung des Dottersackentoblasts und die Furchung bei der Forelle. Arch. f. mikroskop. Anat. 79. 1911. — Außerdem: *Berent:* Zur Kenntnis des Parablastes und der Keimblätterdifferenzierung im Ei der Knochenfische. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. 30. 1896. — *Бере*: Дробление и образование парабласта у щуки (*Esox lucius.*) Из. опыт. Зоол. ст д. I. II. 1899. (*Berg*, 1899. Russisch.) — *Головин*: О первобласте костистых рыб. Изв. Имп. Акад. II. 9, Nr. 4. 1898. (*Golowin*, 1898. Russisch.) — *Lwoff:* Die Bildung der primären Keimblätter und die Entwicklung der Chorda und des Mesoderms bei den Wirbeltieren. Уч Зап. Моск. Унив. Moskau 1893. — *Morgan:* Experimental studies on the Telost egg. Anat. Anz. 8. 1897. — *Reinhard, W:* Die Bedeutung des Periblasts und der Kupfferschen Blase in der Entwicklung der Knochenfische. Arch. f. mikroskop. Anat. 1898.

II

Die meiste Literatur gibt es in den Arbeiten von *Aunap* und *Rubaschkin.*

1. *Aunap:* Über die Chondriosomen der Gonocyten bei Knochenfischen. Anat. Anz. 44. 1912. — 2. *Rubaschkin:* Zur Lehre von Keimbahn der Säuger. Anat. Hefte 46. 1912. — Außerdem: 3. *Fedorow:* Über die Wanderung der Genitalzellen bei *Salmo fario.* Anat. Anz. 38. 1907.

(Aus dem Zoologischen Institut der Jan Kazimierz-Universität in Lwów [Lemberg].)

Technische Hinweise zum operativen Vorgehen (Transplantation, Implantation u. a.) an Amphibien- und Insektenlarven.

Von

Prof. Dr. **Jan Hirschler,**

Direktor des Instituts.

(Eingegangen am 24. Februar 1924.)

Als ich mich im Jahre 1917 daranmachte, zwecks Lösung gewisser Fragen, an geschlüpften Amphibienlarven und erwachsenen Amphibien Transplantationen und Implantationen von Organen auszuführen, hielt ich Umschau in den Arbeiten derjenigen Autoren, die derartige Operationen mit gutem Erfolge vorgenommen haben, um sich über das betreffende technischen Vorgehen zu unterrichten. Leider fand ich in keiner von ihnen nicht nur keine ausführliche Beschreibung der Operationstechnik, sondern auch nicht einmal skizzenartige Hinweise, die ein Vornehmen derartiger Operationen erleichtern würden; eine Ausnahme darin machen die bekannten Untersuchungen *Borns* und *Spemanns*, welche ihr Verfahren der Öffentlichkeit zugänglich gemacht haben; ihre wertvollen Hinweise konnten aber meinerseits nicht in Anwendung gebracht werden, denn es handelte sich mir nicht um Versuche an fast unbeweglichen Embryonen und somit war ich gezwungen, mir eigene Vorgehen auszuarbeiten. Da man dabei viel Zeit und Mühe verliert und oft erst auf Umwegen das eigentliche Ziel erreicht, glaube ich nicht fehlzugehen, wenn ich über die meinerseits gewonnene Erfahrung auf diesem Gebiete berichte und auf diese Weise den Weg denjenigen ebene, die beabsichtigen derartige Versuche anzustellen. Daß aber mittels dem Transplantations-, Implantations- und Extirpationsversuch noch so manche Frage zu lösen ist, die bis jetzt überhaupt noch nicht in Angriff genommen wurde, braucht wohl kaum näher begründet zu werden.

1. Transplantation von Haut, Auge und Schwanz bei Amphibien.

a) *Transplantation larvaler Amphibienhaut auf Amphibienlarven.* Die Spendertiere, von denen die Haut zt Transplantationen verwendet wird, werden in einem Gemisch von Äther sulfuricus und Leitungswasser (dessen Zusammensetzung an einer anderen Stelle angegeben wurde)[1]) narkotisiert. Das Verweilen in diesem Gemisch soll möglichst kurz dauern

[1]) *Hirschler, J.:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **51.** 1922.

und im Augenblicke, in welchem die Bewegungen des Tieres aufhören, unterbrochen werden; eine zu lange dauernde Äthereinwirkung beeinträchtigt die Vitalität der Haut, die demnächst transplantiert werden soll, schädlich. Nachdem das Tier in den Narkosezustand verfallen ist, wird es sofort auf eine wassergetränkte Watteunterlage gebracht und das Abpräparieren des zu transplantierenden Hautstückes begonnen. Dieses Hautstück soll am besten die Form eines Quadrates oder Rechteckes besitzen, denn dann ist es der entblößten Wundfläche des Wirtstieres leicht genau anzupassen, wodurch das schnelle Einheilen des Transplantates, worauf es eben bei solchen Versuchen ankommt, ganz bedeutend gefördert wird. Die Ränder des Transplantates sollen möglichst glatt sein, was beim Gebrauche kleiner, spitzer und scharfer Scheren leicht zu erlangen ist; solche Hauträndер aneinander- oder an den ebenfalls glatten Wundrand des Wirtstieres gelegt, verwachsen mit ihren Epithelien äußerst schnell. Das Abpräparieren des Hautstückes, welches wegen Gefahr an Wasserverlust (hauptsächlich an heißen Sommertagen) wo möglich rasch in 2—3 Minuten auszuführen ist, wird mittels Schere, stumpfspitziger Pinzette und stumpfspitzigem Glasstabe vorgenommen. Mittels Schere wird die Haut der Amphibienlarve entlang der Kontour eines Rechteckes durchschnitten, mittels der Pinzette in der einen Ecke etwas emporgehoben und hernach behutsam vom Tiere abgezogen, wobei mit dem Glasstabe nachzuhelfen ist. Hernach wird das abpräparierte Hautstück sofort, mit dem Hautepithel nach außen, auf die entblößte Hautfläche zurückgelegt und darunter ein peinlich gereinigtes (entfettetes), mit physiologischer Kochsalzlösung (für Amphibien) oder mit Ringer-Locke-Lösung (für Amphibien) benetztes Deckglas geschoben. Das jetzt dem Deckglase glatt aufliegende Hautstück wird auf diesem derart placiert, daß einer von seinen Rändern mit dem Rande des Deckglases zusammenfällt. Deckglas samt Hautstück kommen jetzt in eine kleine Feuchtkammer, deren Boden mit benetztem (physiologische Kochsalz- oder Ringer-Locke-Lösung) Fließpapier bedeckt ist. Als Feuchtkammer sind sehr gut Petrischalen zu gebrauchen, die an Sommertagen in einen Kühlraum (größeres geschlossenes Glasgefäß, welches von fließendem Wasser umspült wird) gebracht werden; unter diesen Bedingungen bleiben larvale Hautstücke nach einem über 1 Stunde langen Verweilen in der Feuchtkammer transplantationsfähig. Jetzt wird das Wirtstier, welchem das Hautstück aufzupflanzen ist, in dem genannten Äthergemisch narkotisiert. Die Narkose der Wirtstiere muß eine möglichst tiefe sein, damit sie längere Zeit in Ruhe verharren, was für das Gelingen der Transplantation wichtig ist; erwachen sie nämlich aus der Narkose zu früh, so kommt es dann oft vor, daß sie heftige Bewegungen ausführen und das noch ungenügend angeheilte Transplantat herunterwerfen. Um den gewünschten Narkosezustand zu erreichen, müssen

Kaulquappen von *Rana temporaria* (alles Zeitangaben für halbausgewachsene Quappen, an denen die Hinterbeine noch knospenartig sind) 2—3 Minuten, von *Rana esculenta* 3—5 Minuten, von *Pelobates fuscus* 5—8 Minuten in dem genannten Äthergemisch verweilen. Nach diesem Vorgehen kommt es fast nie vor, damit ein Tier wegen zu weit geführter Narkose einginge. Nach meiner Erfahrung ist für Amphibien überhaupt nur Äthernarkose anwendbar, während Chloroformnarkose zu sehr unsicheren Erfolgen führt und im allgemeinen schlecht von Amphibien ertragen wird. Mittelgroße Urodelenlarven (*Triton*, *Salamandra*) sind im genannten Äthergemisch 3—4 Minuten ohne Schaden zu halten, längeres Verweilen führt eine Nekrose der äußeren Kiemenbüschel herbei, an welcher ein Teil der Tiere eingeht. Da beim Einlegen und Herausnehmen der Tiere aus dem Äthergemisch, was mit dem Öffnen des Gefäßes verbunden ist, der Äther allmählich verdunstet und man Gefahr läuft, die Wirtstiere ungenügend zu narkotisieren, muß das Äthergemisch von Zeit zu Zeit erneuert werden, um in ihm den gewünschten Äthergehalt zu erhalten.

Nachdem nun das Wirtstier richtigerweise narkotisiert ist, wird es auf einen mit Leitungswasser getränkten Wattepolster gebracht und, da gewöhnlich Hautstücke auf den Kopf, die Nacken- und Rückengegend transplantiert werden, auf diesen mit der Bauchseite gelegt. Mit einer scharfen, spitzen Schere wird jetzt die Haut entlang der Kontour eines Rechteckes, dessen Fläche derjenigen des zu transplantierenden Hautstückes anzupassen ist, durchschnitten und das im Rechtecke sich befindende Hautstück heruntergezogen. Sogleich darauf wird aus der Petrifeuchtkammer das Deckglas mit dem Hautstück herausgenommen und dieses mit demjenigen Rand an den vorderen Rand der Wundfläche gelegt, an welchem sich eben auch der Rand des Hautstückes befindet. Jetzt wird das Hautstück an dem Rande, welcher mit dem Rande des Deckglases zusammenfällt, mittels eines stumpfspitzen Glasstabes ein wenig vom Deckglase auf die Wundfläche heruntergezogen und hier festgehalten, das Deckglas dagegen nach hinten herausgeschoben, wodurch schließlich das Hautstück seiner ganzen Fläche nach auf die Wundfläche verlagert wird und ihr sogleich glatt aufliegt. Das ganze Vorgehen mit dem Deckglase, wie es vorher geschildert wurde, habe ich sehr praktisch gefunden, denn wenn man abpräparierte Hautstücke auf nasses Fließpapier legt, so werden sie durch Papierfädchen verunreinigt und das Übertragen dieser Stücke auf das Wirtstier gestaltet sich ziemlich umständlich und langdauernd, setzt also die Larvalhaut der Gefahr eines zu großen Wasserverlustes aus. Bringt man wiederum abpräparierte Hautstücke in eine physiologisch äquilibrierte Lösung, so haben sie die Tendenz, sich einzurollen oder mit ihren freien Rändern zusammenzuwachsen, was ein schnelles Anbringen des Transplantates an dem Wirts-

tiere, um das es sich ganz besonders handelt, erheblich erschwert. Allen diesen technischen Umständlichkeiten weicht man leicht aus, wenn man das Deckglasverfahren in Anwendung bringt, nur muß die Glasoberfläche genau entfettet und mit einer Lösung benetzt sein, denn sonst klebt das Hautstück leicht an dieselbe an. Gute Dienste leisten in dieser Hinsicht auch Deckgläser, die mit einem dünnen Paraffinüberzug bedeckt sind, denn dann ist die Gefahr eines Anklebens ausgeschlossen; da aber ihre Fläche nicht gleichmäßig mit einer Wasserlösung bedeckt werden kann, so muß die Lösung nachträglich aufgeträufelt und ihre Tropfen mit dem Rande des Hautstückes in Kontakt gebracht werden. Beim Abpräparieren der Haut in der Rückengegend ist noch darauf zu achten, damit man beim Wirtstiere nicht das Peritoneum durchschneide, denn durch die in die Bauchhöhle gemachte Öffnung quellen, sobald die Tiere aus der Narkose erwachen, die Eingeweide heraus, woran Urodelenlarven und zartere Kaulquappen (*Rana temporaria*, *Bombinator igneus*) regelmäßig eingehen, während manche *Esculenta*- und *Pelobates*-Quappen auch diese schwere Verwundung, die eingeheilt wird, überleben.

Sobald das Transplantat der Wundfläche aufgelegt und angepaßt ist, kommt das Wirtstier mitsamt der nassen Watteunterlage in eine Feuchtkammer, und diese wird in eine Kühleinrichtung eingestellt. Dazu bediene ich mich großer, flacher, offener Gefäße aus Zinkblech, in denen ca. 20 kleinere Feuchtkammern Platz haben. Durch diese Blechgefäße fließt beständig Leitungswasser, dessen Niveau so gehalten wird, daß die Feuchtkammern etwa zur Hälfte im Wasser eingetaucht stehen. In Lemberg kann man auf diese Weise in der Kühleinrichtung, sogar an Sommertagen, eine Temperatur von + 9° C haben, doch genügt für operierte Amphibien vollkommen eine Temperatur von + 11 bis + 13° C. Diese Kühleinrichtung hat das Gute an sich, daß in ihr Amphibienlarven, ohne Schaden, längere Zeit außer Wasser (in Feuchtkammern) verbleiben können, was für das Anheilen des Transplantates ausschlaggebend ist. Arbeitet man an Sommertagen ohne Kühleinrichtung, so muß der Aufenthalt der operierten Tiere in den Feuchtkammern ganz erheblich verkürzt werden, denn sonst gehen sie hernach ein. Diese verkürzte Frist reicht aber oft nicht dazu aus, um das Transplantat zu einer genügenden Anheilung zu bringen, was dann, wenn die Tiere ins Wasser gebracht werden, ein Herunterfallen oder eine teilweise Nekrose des Hauttransplantates zur Folge hat. Immerhin gibt es Arten, denen Hauttransplantate, auch ziemlich große (10 mm² Fläche), schon binnen wenigen (8—10) Minuten derart anhaften, daß sie im Wasser nicht mehr abgeworfen werden. Diese Erfahrung machte ich eines Sommers an *Pelobates*-Kaulquappen, die ich als Wirtstiere gebrauchte, ohne an dieser Stelle über Kühleinrichtungen zu verfügen. Im Laboratorium bediene

ich mich aber stets der Kühleinrichtung, die ein sicheres Arbeiten gewährleistet. Für die einzelnen Arten habe ich folgende Zeiten als genügend und unschädlich gefunden: In den Feuchtkammern und der Kühleinrichtung können jüngere Urodelenlarven 1,5 Stunde, ältere bis 2 Stunden verweilen; *Temporaria-* und *Bombinator*-Kaulquappen bis 1,5 Stunde, *Esculenta-* und *Pelobates*-Kaulquappen 2—2,5 Stunden. Nach diesen Fristen sind die Transplantate schon genügend angeheilt und unterliegen keinen nekrotischen Entartungen, nachdem die Tiere ins Wasser gebracht werden. Manche Kaulquappen ertragen ohne Schaden (wie diejenigen von *Rana esculenta*) ein viel längeres Verweilen in der Feuchtkammerkühleinrichtung, nur leiden dann gewöhnlich die Transplantate, deren physiologischer Zusammenhang mit dem Wirtsorganismus immerhin zu dieser Zeit ein noch ziemlich loser ist.

Mittels dieses Verfahrens habe ich mit gutem Erfolge sowohl homo- wie auch heteroplastische Hauttransplantationen an Amphibienlarven ausgeführt, wobei fast alle einheimischen Arten als Versuchsmaterial gebraucht wurden. Das weitere Verhalten des eingeheilten Transplantates gestaltet sich bei Heterotransplantationen, abhängig von den Artdifferenzen, ziemlich verschieden, worauf wir hier aber nicht eingehen werden. Wir möchten nur noch nachholen, daß ich es gut gefunden habe, wenn die operierten Tiere, nach ihrer Entnahme aus der Feuchtkammer, über die nächsten 24—48 Stunden in wassergefüllten Gefäßen bei der Temperatur der Kühleinrichtung (es ist dazu eine zweite Kühleinrichtung zu gebrauchen) gezüchtet und erst hernach der Zimmertemperatur ausgesetzt werden.

b) *Transplantation larvaler Haut auf metamorphosierte Amphibien und Hauttransplantation von metamorphosierten (erwachsenen) Amphibien auf Amphibienlarven.* Beiden Versuchsanordnungen sind die sub 1 a) geschilderten Maßregeln zugrunde zu legen. Larvale Tritonenhaut heilt an erwachsenen Tieren derselben Species leicht ein[1]), dasselbe konnte Frl. *Slowikowska*[2]) für erwachsene *Bombinator* feststellen, denen die Haut ihrer Kaulquappen aufgepflanzt wurde. Will man auf erwachsenen Amphibien larvale Hauttransplantate mehrere Wochen am Leben erhalten, so müssen die Volltiere in wassergefüllten Gefäßen gezüchtet werden und das Hauttransplantat sich unter Wasser befinden, denn sonst nekrotisiert es äußerst schnell oder trocknet ein. Haut von erwachsenen Amphibien ist leicht Amphibienlarven aufzupflanzen (siehe meine Arbeit[3])), insofern die Rücken- oder Kopfgegend in Betracht kommt; will man dagegen Froschhaut auf Kaulquappenschwänze trans-

[1]) *Hirschler, J.:* Kosmos, Lwów (Lemberg) **43.** 1920.
[2]) *Słowikowska, S.:* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. Paris 1923.
[3]) *Hirschler, J.:* Biol. Zentralbl. **42.** 1922.

plantieren, so ist damit zu rechnen, daß in dieser Körperregion die Hautstücke viel schwerer an die Unterlage anwachsen, wie z. B. auf dem Rücken, und nur in ca. 50% der Fälle gute Resultate zu erhalten sind.

c) *Transplantation larvaler Amphibienaugen auf Amphibienlarven.* Der Augapfel wird mitsamt den ihn umgebenden Haut- und Skelettteilen abpräpariert und auf einem Deckglase in die Feuchtkammer gebracht. Das übrige Verfahren gestaltet sich wie sub 1 a. Transplantat und Wundfläche am Wirtstiere müssen möglichst genau angepaßt sein. Erfolgreiche Transplantationen des Auges wurden im hiesigen Laboratorium seitens Frl. *Vrtelowna* ausgeführt. Homoplastisch lassen sich Kaulquappenaugen leicht auf dem Kopfe (zwischen den Augen), in der Nacken- und Rückengegend zur Einheilung bringen. Über ihr Verhalten wird demnächst Frl. *Vrtelowna* eingehender berichten. In Anwendung kamen Kaulquappen von *Bombinator*, *Hyla* und *Pelobates*.

d) *Transplantation der Kaulquappenschwänze auf erwachsene Frösche.* Diesen Versuch habe ich deswegen ausgeführt, um mich zu überzeugen, ob erwachsene Frösche die Fähigkeit haben, am Kaulquappenschwanze seine Involution auszulösen, wie sie während der Kaulquappenmetamorphose normalerweise stattfindet. Das betreffende Vorgehen war folgendes: Erwachsene *Rana temporaria* wurden einer tiefen Äthernarkose unterzogen und hernach mittels Leinwandfesseln an Brettern befestigt; diesen Tieren wurde in der Kreuzgegend (von dieser Körpergegend können die Tiere, nach dem Erwachen, mit den Hinterfüßen das Transplantat nicht abwerfen) ein kleines Stück Haut von rechteckiger Form ausgeschnitten und hernach unter ihren Rand das vom Hautepithel entblößte Vorderende des hinter der Analöffnung abgeschnittenen Kaulquappenschwanzes gesteckt; zunächst wurden die operierten Tiere 2 Stunden hindurch in Feuchtkammern gehalten, um darauf in ein flaches Gefäß mit durchfließendem Wasser gebracht zu werden; in diesem Gefäße, in welchem die Tiere 24 Stunden verblieben, waren sie derart untergebracht, daß der Kopf der Frösche sich über dem Wasserspiegel, der Hinterkörper samt Transplantat dagegen unter diesem befand. Hierauf wurden die Tiere behutsam (um keine heftigen Bewegungen zu verursachen) von den Fesseln befreit und einzeln in wassergefüllten Gefäßen weitergezüchtet; der Wasserbestand war hier ebenfalls so eingestellt, daß sich der Kopf über, das Transplantat dagegen unter seinem Niveau befand. Derartige Transplantationen führte ich im allgemeinen 50 aus, und darauf gelang es mir nur in drei Fällen, den Kaulquappenschwanz tadellos zur Einheilung zu bringen. Bei einem Tier konnte er intakt und lebendig 29 Tage, bei dem zweiten 32 Tage, bei dem dritten 40 Tage erhalten werden. Darauf stellten sich an den Schwänzen Involutionsveränderungen ein, worüber ich in einem besonderen Aufsatze berichten werde.

2. Implantation kugelförmiger und ovoider Organe und Fremdkörper in die Bauchhöhle der Amphibienlarven.

Das betreffende Verfahren wurde meinerseits in der Arbeit aus dem Jahre 1922 (dieses Archiv Bd. 51) eingehend geschildert; ich berichtete dort über die Einpflanzung von „Jodmagazinen" und Jodstückchen in die Bauchhöhle von Kaulquappen; es bezieht sich aber ebensogut auch auf Urodelenlarven. An Stelle von anorganischen Gebilden können auf dieselbe Weise auch Organe von larvalen und erwachsenen Amphibien in die Bauchhöhle implantiert werden. Das Verfahren habe ich als sehr zuverlässig gefunden. Wenn Tiere nach der Operation eingehen, so ist daran die Giftigkeit des implantierten Körpers, nicht die Operationstechnik schuld.

3. Implantation röhren- und fadenförmiger Organe in die Körper-(Bauch-)höhle der Insekten- und Amphibienlarven.

Im Jahre 1916 überzeugte ich mich, daß Raupen des Wolfsmilchschwärmers gut die Einpflanzung von Glaskapillaren (die mit gewissen Substanzen gefüllt waren) in die Körperhöhle vertragen, sich hernach verpuppen und Falter liefern. Die Einpflanzung dieser Glaskapillaren wurde auf folgende Weise ausgeführt: An das eine Ende eines Fadens wurde die an dieser Stelle zugespitzte Capillare gebunden, an dem anderen Ende eine Stahlnadel angebracht, deren Länge diejenige der Capillare übertraf; hernach wurde die Raupenhaut (am narkotisierten Tiere) in der hinteren Körpergegend durchstochen, die Nadel in der Körperhöhle mehrere Segmente nach vorn geführt, darauf wurde die Haut von innen angestochen und die Nadel, welcher der Faden folgte, nach außen aus dem Raupenkörper herausgezogen. Zieht man jetzt behutsam den Faden nach vorn, so folgt ihm in die Körperhöhle die Capillare, die man nach dem Abschneiden des Fadens darin läßt. Dieses Verfahren wurde hernach zur Einpflanzung der Raupenbauchganglienkette in die Körperhöhle anderer Raupen im hiesigen Laboratorium seitens *Gedroyć*[1]) folgendermaßen adaptiert: Es wurde eine lange, dünne, an einem Ende etwas zugespitzte Glascapillare hergestellt und mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. An der herauspräparierten Bauchganglienkette einer Raupe wurde an dem Vorder- und Hinterende der Kette ein stärkerer Tracheenast in Zusammenhang mit ihr gelassen und an beide Tracheenäste Fäden gebunden, wobei an das Vorderende des vorderen Fadens eine lange Stahlnadel angebracht wurde; mittels Nadel und dem vorderen Faden wurde die Ganglienkette in die Glascapillare annähernd gleicher Länge gebracht, so daß das

[1]) *Gedroyć, M.:* Arch. d. Gesellsch. d. Wissenschaften in Lwów (Lemberg), Math.-Nat. Klasse. **2.** 1923.

Vorderende der Ganglienkette mit dem zugespitzten Ende der Glascapillare zusammenfiel; jetzt wurde der vordere Faden knapp an dem genannten Ende der Capillare abgeschnitten, während aus ihrer hinteren Öffnung der hintere Faden frei heraushing. Hernach machte man seitlich am Raupenkörper, in seiner hinteren Region, einen kleinen Einschnitt in die Haut, führte das zugespitzte Ende der Capillare hinein, passierte mit der Capillare einige Segmente nach vorn, ohne die Haut und den Darm zu verletzen, und brachte das vordere Capillarende durch einen vorn gelegenen kleinen Hauteinschnitt nach außen. Jetzt wurde die Ganglienkette mittels des hinteren Fadens festgehalten und die Capillare an ihrem Vorderende gefaßt und aus der Raupe herausgezogen. Auf diese Weise blieb die Ganglienkette in gestreckter Lage im Körperinnern der Raupe liegen und ließ sich in der Puppe an Schnitten histologisch nachweisen. Das ganze Vorgehen wurde an narkotisierten Raupen (Äthernarkose) vorgenommen.

Dieses Fadenverfahren wurde hernach seitens des Assistenten des hiesigen Instituts, Herrn *Sembrat*, bei der Implantation von Abschnitten des Kaulquappendarmes in die Bauchhöhle von Kaulquappen in Anwendung gebracht. Da man nicht zu fürchten brauchte, damit der Darm bei seinem Einführen in die Bauchhöhle einreiße, war eine Assekuration mittels einer Glasröhre, wie ihrer die zarte Raupenganglienkette bedurfte, überflüssig. An das eine Ende eines Darmabschnittes wurde ein Faden gebunden, der nach vorn mit einer dickeren und nicht zu spitzen Nadel (um Verwundungen des Kaulquappendarmes zu vermeiden) zusammenhing. Hernach wurden die narkotisierten Kaulquappen auf den Rücken gelegt und durch ihre Bauchhöhle, der Quere nach, die Nadel, der Faden und der Darmabschnitt geführt. Hernach wurden die Teile des Darmabschnittes, die an der Ein- und Austrittsstelle herausragten, knapp an der Hautoberfläche abgeschnitten und die Tiere wie gewöhnlich in die Feuchtkammer und dann in die Wasserbehälter gebracht. Dieses Verfahrens bediente sich in einer noch einfacheren Form der Assistent Herr *Drzewicki*, der Fäden, die mit gewissen Substanzen getränkt wurden, den Kaulquappen in die Bauchhöhle einpflanzte. Die beiden letztgenannten Herren werden bald über die Ergebnisse ihrer Versuche berichten.

4. Exstirpation der Schilddrüse bei Kaulquappen.

Im Jahre 1921 machte ich mich daran, mittelgroßen Kaulquappen von *Rana esculenta* die Schilddrüse beiderseits zu exstirpieren. Meine damalige Technik ging darauf aus, die Schilddrüsen von dem Zungenbeinknorpel mittels eines kleinen Messerchens, wie es seitens der Oculisten bei der Staroperation gebraucht wird, herunterzukratzen, sie hernach in eine kleine Pipette aufzusaugen und auf diese Weise aus dem

Körper der Kaulquappen zu entfernen. Die Tiere vertrugen diesen Eingriff tadellos, die histologische Kontrolle überzeugte mich aber davon, daß er unzureichend ist, indem man auf diesem Wege meistens keine totale (beiderseitige) Thyreoideaexstirpation erreicht und größere oder kleinere Schilddrüsenfragmente in den Quappen zurückläßt. Deshalb modifizierte ich im Jahre 1922 mein Verfahren und unternahm eine Exstirpation des hinteren Teiles des Zungenbeinknorpels mitsamt den ihm angewachsenen Schilddrüsen. Bevor ich aber imstande war, meine Operationstechnik zu veröffentlichen, erschien die Arbeit *W. Schulzes*[1]), dessen betreffendes Vorgehen dem meinigen nahekommt, wobei wir beide von demselben Prinzip ausgehen: nämlich nicht auf dem Wege eines Massenexperimentes das erwünschte Ziel zu erreichen (welchen Weg *Adler* und einige amerikanische Forscher gegangen sind), sondern dem Vorgehen eine so präzise Fassung zu geben, damit mittels weniger vorgenommener Operationen positive Resultate zu erhalten wären. Da aber mein Vorgehen von dem *Schulze*schen immerhin in gewissen Handhabungen, die mir einfacher und praktisch erscheinen, abweicht, finde ich es nicht unangezeigt, es eingehender zu schildern: Das narkotisierte Tier wird mit dem Rücken auf einen Wattepolster gebracht und befindet sich in einem flachen Gefäß, in Ringer-Locke-Lösung (für Amphibien) eingetaucht. Die Operation führte ich mittels dreier Geräte aus: 1. mittels eines Glasstabes, dessen Dicke der Mundöffnung der Kaulquappe angepaßt, und dessen etwas zugespitztes Ende etwas gebogen und ziemlich dick mit Paraffin überzogen ist, 2. einer dünnspitzigen Pinzette und 3. einer kleinen, spitz auslaufenden Schere. Zuerst wird die Spitze des Glasstabes seicht in die Mundhöhle der Kaulquappe eingeführt und mittels ihr die ventrale Wand der genannten Höhle, knapp hinter der Mundöffnung, etwas emporgehoben; an dieser Stelle mache ich in die Haut einen kleinen Einschnitt und führe von ihm aus zwei Schnitte, die unter einem spitzen Winkel divergieren; diese Schnitte müssen nur die Haut durchtrennen, müssen nach innen von den Branchialhöhlen liegen und nach hinten bis auf die Höhe des Herzens reichen; jetzt wird der Hautrand hinter der Mundöffnung mittels einer Pinzette gefaßt und die Haut nach hinten bis auf die Höhe des Herzens abpräpariert, so daß man den vorderen Teil des pulsierenden Herzens zu Gesicht bekommt; der abpräparierte Hautlappen der nach hinten mit seiner breiten Basis mit der übrigen Haut zusammenhängt, wird auf den Bauch der Kaulquappe geschlagen. Jetzt fahre ich durch die Mundöffnung tief mit dem Glasstabe in die Rachengegend hinein, so daß der hintere Rand der C. hyoidea mit dem Ende des Glasstabes fast zusammenfällt; durch ein leichtes Emporheben des Zungenbeinknorpels mittels des

[1]) *Schulze, W.:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **52 (97).** 1923.

Glasstabes, kann man sich genau (eine drei- bis vierfach vergrößernde Lupe zu Hilfe genommen) über die Lage beider Schilddrüsen orientieren, indem sie deutlich als gebliche oder rosa gefärbte, ovale Körper von dem weißlichen Untergrunde (wozu das weiße Paraffin des Glasstabes ganz erheblich beiträgt) abstechen. Ohne die Lage des Glasstabes zu ändern, wird der Zungenbeinknorpel an seinem hinteren Rande von den ihm anhaftenden Geweben isoliert und in diesen Rand, links und rechts, nach vorn und knapp nach innen von den Kopfblutgefäßen, mittels der Schere eingeschnitten; hernach wird der Glasstab aus der Kaulquappe herausgenommen, der hintere Teil des Zungenbeinknorpels, was die gemachten Einschnitte erlauben, emporgehoben, der Quere nach abgeschnitten und in die physiologische Kochsalzlösung gebracht, um zu kontrollieren (Binocularlupe, stärkere Vergrößerung), ob ihm beide Schilddrüsen in ihrer intakten, ovalen Form anhaften. Hierauf wird der Hautlappen nach vorn geschlagen und mit ihm möglichst genau das ganze Operationsfeld bedeckt. Die Kaulquappe wird jetzt samt Wattepolster dem Gefäße entnommen und in die Feuchtkammer gebracht, um nach einer gewissen Zeit (für *Rana esculenta* 2 Stunden, für *Pelobates* besser kürzer) in wassergefüllte Behälter gebracht zu werden. Nachträglich möchte ich noch hinzufügen, daß eine Verletzung der Zungenbeinmuskeln und größerer Gefäße möglichst zu vermeiden ist, worauf auch *Schulze* Nachdruck legt. Kleinere Blutungen habe ich als ungefährlich gefunden; wird das Operationsfeld durch Blut verdeckt, so ist es sofort mit einer Pipette abzuspülen. Einhaltung strenger Asepsis bei Amphibienoperationen halte ich für ziemlich entbehrlich.

Bei Anwendung des geschilderten Verfahrens kann man an mittelgroßen Kaulquappen von *Rana esculenta* und *Pelobates*, die noch kleine Hinterbeine besitzen, mittels weniger vorgenommenen Operationen, zum erwünschten Ziele kommen, weswegen ich es auch für weniger Eingeübte als empfehlenswert betrachten möchte.

5. Schnelles Aufsuchen der Schilddrüse bei Kaulquappen.

Dieses Verfahren findet dort Anwendung, wo es sich darum handelt, möglichst lebensfrische Schilddrüsen, zwecks ihrer weiteren Implantation zu gewinnen, oder wenn es darauf ankommt, zu serologischen Versuchen sich ein größeres Quantum möglichst frischer Schilddrüsensubstanz in kurzer Zeit zu verschaffen. Dieses einfache und praktische Verfahren gestaltet sich folgendermaßen: Eine leicht narkotisierte Kaulquappe wird mit dem Rücken auf eine Watteunterlage gelegt, hernach wird mit einer Schere in den rechten und linken Mundwinkel, weit nach hinten, bis auf die Höhe des Herzens, eingeschnitten, der seitlich isolierte Körperlappen an der Unterlippe gefaßt, emporgehoben, gegen das Licht gehalten und von der Innenseite betrachtet; die Trans-

parenz des Körperlappens, die bei den kleinen Kaulquappen von *Rana temporaria* eine große ist, erlaubt, bei einer gewissen Übung, die leicht zu gewinnen ist, schon mit unbewaffnetem Auge die beiden Schilddrüsen, die knapp über dem pulsierenden Herzen gelegen sind, zu erkennen; sie werden dann mitsamt dem Zungenbeinknorpel mittels einiger Scherenschnitte von dem Kaulquappenkörper isoliert und entweder gleich implantiert oder in eine äquilibrierte Lösung von niederer Temperatur gebracht. Auf diese Weise kann man in 1 Stunde aus 60 Kaulquappen die Schilddrüsen gewinnen und sie mitsamt den Knorpeln in der genannten Lösung magazinieren; ist die Zahl der Schilddrüsen genügend groß, so wird das angesammelte Material unter eine Binocularlupe gebracht und die Schilddrüsen von den Knorpeln isoliert, was mittels Präpariernadeln äußerst schnell von statten geht.

Lwów (Lemberg), Januar 1924.

Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien.

I. Furchung und Gastrulation bei Rana und Triton.

Von

H. Giersberg, Breslau.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. März 1924.)

Die nachfolgenden Versuche experimenteller Beeinflussung der Amphibienentwicklung durch Einwirkung von Salzlösungen sind in der ausgesprochenen Absicht angestellt worden, nach Möglichkeit analysierbare Abänderungen der normalen Entwicklung durch physikalisch-chemische Beeinflussung der Plasmakolloide zu erzeugen. Gelingt es, durch quellungssteigernde und hemmende, wasserzuführende und entziehende Mittel abgeänderte physikalische Bedingungen zu schaffen, gewissermaßen das Eimaterial in einzelnen Teilen mechanisch zu beeinflussen, ohne daß dabei stark schädigende und unkontrollierbare Nebenwirkungen auftreten und, läßt sich die experimentelle Abänderung analysierbar machen, so ist zu erwarten, daß man aus den Ergebnissen auch Rückschlüsse auf die normale Entwicklung zu ziehen imstande ist.

Besonders die tierische Faltenbildung müßte ein günstiges Objekt derartiger Untersuchungen sein. Denn es ist anzunehmen, daß in zähem, unelastischem Material eine typisch andere Faltung einsetzen muß, als in weichem, verflüssigtem. Von solcher Faltenbildung käme aber besonders Gastrulation und Neurulation in Frage, da beide auf der Oberfläche des Eies auftreten, daher einmal leichter den einzuwirkenden Chemikalien zugänglich, zum anderen gut kontrollierbar sind.

Die nachfolgende Untersuchung gliedert sich demnach in zwei Teile, nämlich in eine experimentelle Beeinflussung der Gastrulation und eine solche der Neurulation, von denen allerdings der erste nur den Charakter einer vorläufigen Mitteilung hat, während ich die Faltenbildung der Neurulation etwas eingehender untersuchen konnte. Es ergeben sich aber natürlich auch Nebenwirkungen auf andere Entwicklungsprozesse, die mit in die Schilderung einzubeziehen sind. Ich möchte in dieser ersten Abhandlung ganz kurz auf die sich bisher ergebenden Resultate während der ersten Eientwicklung bis zum Abschluß der Gastrulation eingehen, da ich in der etwas ausführlicheren Untersuchung über die Neurulation öfters darauf zurückgreifen muß, obwohl ich mir bewußt bin, den Fragenkomplex der Gastrulation bisher erst angeschnitten zu haben.

Methodik.

Die Eier je eines künstlich befruchteten Laichballens von *Rana temporaria* wurden etwa 2—3 Stunden nach der Besamung gleichmäßig zu je 30—50 Stück in gleich große Aquarien verteilt und dort unter möglichst gleichen Außenbedingungen in den verschiedenen Salzlösungen aufgezogen. Späterhin wurden Eier auf verschiedenen Entwicklungsstadien (Morulae, Gastrulae) den Einwirkungen der Salzlösungen ausgesetzt, um die verschiedenartige Beeinflussung der verschiedenen Stadien zu erkennen. Schließlich wurde auch zeitlich begrenzte Salzeinwirkung (doch nicht unter 20 Stunden) erprobt, um eventuell Nachwirkungen nachweisen zu können.

Es kamen im allgemeinen nur Lösungen in Betracht, deren quellungsfördernde oder hemmende Wirkung auf Kolloide erprobt ist, so z. B. Natriumacetat, Calciumchlorid als Entquellung bewirkende, Natronlauge, Rhodankali, Säuren als quellungsfördernde Mittel. Im Experiment ergaben sich freilich mitunter Nebenwirkungen z. B. bei Rhodankali, das stark schädigend wirkte, so daß die einzelnen Lösungen, sowie ihre Konzentrationen erst im Vorversuch ausgeprobt werden mußten. Als weiteres geeignetes Medium kam Rohrzucker in Frage, dessen verfestigende Wirkung ich aus früheren Amöbenstudien her kannte und dessen Wirkung als eine gelatinierende, verfestigende nach neueren Versuchen anzusprechen ist (*Handovsky*).

Im Frühjahr 1922 wurden diese Vorversuche angestellt. Es wurden verwandt: Rohrzucker $^1/_{20}$—$^1/_{80}$ mol., $CaCl_2$ $^1/_{12}$—$^1/_{80}$ mol., Naac $^1/_{20}$—$^1/_{80}$, NaCl $^1/_{20}$—$^1/_{40}$, Gelatine $^1/_2$—$^1/_4$ %, LiCl $^1/_{10}$—$^1/_{40}$, KSCN $^1/_{30}$—$^1/_{80}$, dest. H_2O, NAOH $^1/_{1000}$—$^1/_{10000}$, Säuren $^1/_{1000}$—$^1/_{10000}$ mol. Conc. sowie Kombinationen. Aufzucht bis zur Metamorphose, täglich mehrfache Kontrolle, teilweise Zeichnung mit Zeichenapparat und Fixierung auf verschiedenen Entwicklungsstadien. Im ganzen wurde ein Material von etwa 3000 Eiern verwandt.

Im Frühjahr 1923 habe ich analoge Versuche an etwa 6000 Eiern angestellt, aber wesentlich stärkere Konzentrationen angewandt, einmal, um den Einfluß osmotischer Wirkung zu studieren, zum zweiten um die schon in den schwächeren Lösungen erkennbare qualitative Beeinflussung zu verstärken und typischer zu machen. Es kamen dabei Konzentrationen von $^1/_2$—$^1/_{16}$ mol. in Verwendung. Doch blieben die Eier in Konzentrationen über $^1/_6$ mol. nicht lebensfähig. Günstige Resultate ergaben besonders Rohrzucker, Natriumacetat und Lithiumchlorid.

I. Entwicklung.

Einwirkungen von Salzlösungen auf Froscheier sind bereits von recht zahlreichen Autoren beschrieben worden (*Yung, Morgan, Hertwig, Bataillon, Gurwitsch, Wilson* usw.), ohne daß zur Zeit die sehr verschiedenen Ergebnisse unter einem einheitlichen Gesichtspunkt geprüft und zusammengefaßt worden wären. Man hat sowohl osmotische Wirkung wie chemische Beeinflussung zur Erklärung der Versuchsresultate herangezogen. Beiderlei Beeinflussungen bestehen sicher zu Recht, es ist aber bisher nicht geglückt, diese beiden Erscheinungskomplexe sicher voneinander abzugrenzen und zu deuten.

Rückschlüsse auf die normale Entwicklung des Froscheies aus solchen Experimenten zu ziehen, hat man indes in den meisten Fällen unterlassen, so daß wir hier diese vielfach sehr schwer zu deutenden Versuchsergebnisse übergehen können.

Zunächst wären die Vorversuche des Frühjahrs 1922 zu besprechen. Auf die Einzelheiten dieser Versuchsreihen und ihrer Ergebnisse einzugehen würde zu weit führen, doch läßt sich ganz allgemein folgendes feststellen: Auf die Eientwicklung bis zum Auftreten des Urmunds hatten sämtliche angewandten Chemikalien bis zu einer Konzentration von $^1/_{12}$ mol. *überhaupt keinen* Einfluß mit der Ausnahme, daß Rhodankali in $^1/_{30}$ und sogar in $^1/_{80}$ mol. Conc. stark retardierend und schädigend wirkte und, daß lipoidlösliche Narcotica wie Chloralhydrat usw. in stärkeren Konzentrationen z. B. 0,1 % entwicklungsschädigende Beeinflussung erkennen ließen. Mit dem Auftreten der Urmundfalte ändert sich das Bild. Die Eier reagieren in ihrer Entwicklung auf die angewandten Chemikalien und zwar in *typischer* Weise, je nach der Natur der betreffenden Medien, so daß wir hier deutlich chemische Beeinflussung der Eientwicklung erkennen können.

Schon bei der Gastrulation läßt sich die verschiedene Beeinflussung erkennen, wenn wir auch hier zuerst nur quantitative Unterschiede in der Schnelligkeit der Entwicklungsvorgänge konstatieren können.

Deutlich hemmend auf die Entwicklung wirken: Zucker, Naac $^1/_{20}$, $^1/_{40}$ und sogar in $^1/_{80}$ mol., wobei eine schädigende Wirkung und Absterben der Eier eher in den Naac-Lösungen eintrat. Hemmend wirkte dann auch LiCl $^1/_{10}$, $^1/_{20}$, $^1/_{30}$, aber viel weniger stark, wogegen $CaCl_2$ $^1/_{30}$ anfangs nur sehr wenig hemmende, dann aber stark schädigende Wirkung ausübte, dagegen in geringerer Konzentration $^1/_{60}$ nur sehr wenig Einfluß hatte. Durchaus indifferent war NaCl $^1/_{20}$ und $^1/_{30}$ mol., worin die Entwicklung im Vergleich zu gewöhnlichem Kulturwasser normal verlief. Aus der verschiedenen Wirkung von Zucker, Naac, LiCl, $CaCl_2$, NaCl in der gleichen Konzentration läßt sich annehmen, daß es sich im wesentlichen um chemische Wirkungen handeln muß, zumal NaCl $^1/_{20}$ mol. Conc. die Eier in keiner Weise beeinflusste, d. h. aber so viel, daß während der Gastrulation diese Salze ins Innere der Zellen eingedrungen sein müssen, da sie sonst keinerlei chemische Einwirkungen ausüben könnten. Damit stimmt überein, daß z. B. von LiCl in stärkerer Konzentration $^1/_{10}$, mitunter auch $^1/_{20}$ mol. besonders leicht eine atypische Gastrulation erzielt werden konnte, die charakteristisch für die Li-Wirkung erschien und die in einer sehr scharfen Ausprägung der Urmundfaltung bestand, die sich ringförmig zu einem weiten Kreise schloß, ohne den exzentrischen Urmundschluß zu zeigen. Dadurch entstanden sogenannte „Riesengastrulae", wie sie in dieser Bildung namentlich nach Li-Wirkung zu entstehen pflegen (Abb. 1). (*Gurwitsch* hat zuerst diese Bildungen erzeugt.)

Deutlicher wird die verschiedene Wirkung der einzelnen Chemikalien während der Neurulation, da hier zum Teil deutliche quali-

tative Unterschiede auftreten. Besonders klar ließ sich dies teilweise bei den Zuckerlösungen in der Bildung von tiefen scharfen Neuralwülsten, sowie bei Li in einer eigenartigen Knickung der Rückenlinie (Abb. 2) bei der Embryobildung, sowie in einer abnorm dicken, kurzen Gestalt erkennen. Eigenartig war die Wirkung destillierten Wassers, welches zum Teil eine Beschleunigung der Entwicklung über das normale Maß hinaus zur Folge hatte, eine Beobachtung, die mit der zu gleicher Zeit von *Gellhorn* gemachten übereinstimmt, wenn auch meine Froscheier sich längere Zeit ungeschädigt in destilliertem Wasser aufziehen ließen und sich dadurch von der von *Gellhorn* untersuchten Kultur unterschieden. Charakteristisch ist, daß diese beschleunigende Wirkung erst *während* der Gastrulation auftritt. Der *Beginn* der Urmundbildung erscheint in keiner Weise verfrüht. Eigenartig erscheint auch teilweise die beobachtete Wirkung der Gelatine, die mitunter

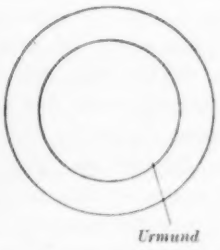


Abb. 1. „Riesenurmund", kreisförmiger, weiter, scharf umgeschlagener Urmundrand.

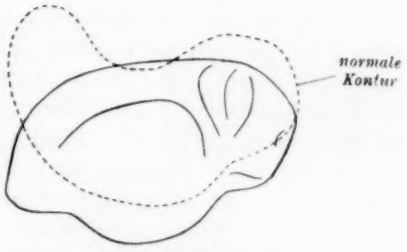


Abb. 2. LiCl-Embryo, normale Kontur gestrichelt.

eine extreme Gastrulation in dem Sinne zur Folge hatte, daß der Urmund vollkommen verschwand, ohne daß sich diese Endgastrulae zur Medullarplattenbildung angeschickt hätten, eine Erscheinung, auf die ich noch zu sprechen kommen werde.

Wir können also folgendes sagen: Keins der angewandten Chemikalien (ausgenommen Rhodankali und Narcotica) ließ in Konzentrationen bis zu $^1/_{20}$ mol. bis zum Beginn der Urmundbildung irgendeine sichtbare Wirkung erkennen. Der Beginn der Gastrulation trat in sämtlichen Lösungen, Salzlösungen, normales Kulturwasser, destilliertes Wasser zu genau der gleichen Zeit ein. Der daraus zu ziehende Schluß wäre also, daß während dieser Zeit die Eier relativ undurchlässig für die angewandten Medien gewesen sein mußten, so daß eine chemische Beeinflussung nicht deutlich werden konnte, während der osmotische Druck der Außenlösung bis zu $^1/_{20}$ mol. zu unerheblich war, um differente Wirkungen zu erzielen.

Anders wird dies dann mit Beginn der Gastrulation. Die durchaus differente Wirkung der einzelnen Chemikalien, die offensichtlich

ganz unabhängig vom osmotischen Druck der Lösungen war (NaCl $^1/_{20}$), zeigt, daß mit Beginn der Gastrulation genügende Mengen der Salze und der anderen Lösungen in die Zellen eingedrungen sein mußten, um deutliche chemische Wirkungen erzielen zu können. Wir können also annehmen, daß höchstwahrscheinlich zu Beginn der Gastrulation die Permeabilitätsverhältnisse der Zellen sich grundlegend geändert haben müssen, da andernfalls der eigenartige Wechsel zwischen Unbeinflußbarkeit bis zur Gastrulation und Beeinflußbarkeit während Gastrulation und Neurulation schwer zu erklären sein dürfte. Auf die andere Möglichkeit, daß die Chemikalien zwar während der Furchungsperiode eingedrungen waren, aber während dieser Zeit keine Möglichkeit der Entwicklungsbeeinflussung gehabt hatten, kommen wir noch zurück.

1923 habe ich dann, wie gesagt, analoge Salzversuche (ca. 6000 Eier) mit Lösungen stärkerer Konzentration angestellt. Zunächst diejenigen Befunde, welche die bisher besprochenen Schlüsse bekräftigen. Bei etwa 10 verschiedenen Versuchsreihen erwies sich bei Elektrolytlösungen der verschiedensten Art bis zu $^1/_8$ mol. Conc., bei Zucker bis zu $^1/_6$ mol. (verständlich deshalb, da Zucker als Nichtelektrolyt nicht in seine Ionen zerfällt und dem nach einen geringeren osmotischen Druck ausübt), daß keinerlei Einflüsse auf die Eientwicklung sich zeigten bis zum Moment der Urmundbildung. Dann setzte eine in allen Fällen typische Einwirkung ein, die entsprechend den stärkeren Konzentrationen auch entsprechend charakteristischere Wirkungen zeitigte.

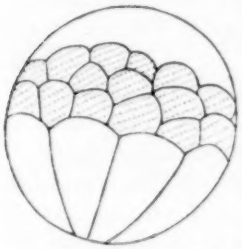


Abb. 3. Morula bei Einwirkung von Salzlösungen in $^1/_4$ mol. Konz. stark geschrumpft, dann absterbend.

Bei Lösungen von $^1/_6$ mol. Conc. NaCl, Naac, $CaCl_2$ usw. dagegen zeigten sich schon geringe Verzögerungen während der Furchungsperiode, so daß die Urmundbildung etwas später sich ausbildete als normal. Zugleich ließ sich aber erkennen, daß Schrumpfungserscheinungen auftraten. Entsprechend der erkennbaren schwachen exosmotischen Schrumpfung war also eine geringe Hemmung zu bemerken. Deutliche osmotische Wirkung zeigten, wie zu erwarten, Lösungen in $^1/_4$ mol. Conc., worin sich die ungeteilten Eier aber nur etwa bis zum 32- und 64-Zellenstadium entwickelten, indem hauptsächlich die Mikromerenteilung durchgeführt wurde. Entsprechend der stark exosmotischen Wasserentziehung blieben dann stark geschrumpfte Zellkugeln als Endresultat übrig, die zu einer weiteren Entwicklung unfähig waren und auch bald abstarben (Abb. 3). Lösungen von $^1/_2$ mol. führten zum raschen Absterben ohne Weiterentwicklung.

Also: Ei und Morula reagieren erst mit dem Beginn exosmotischen Wasserentzugs, zeigen also lediglich Hemmungserscheinungen auf *physikalische* Beeinflussung. Die Gastrula dagegen zeigt typische Reaktionsfähigkeit auf *chemische* Reize und zwar hier entsprechend der stärkeren Beeinflussung auch in stärkerer Weise.

$CaCl_2$ $^1/_6$ mol. wirkt vom Beginn der Gastrulation an stark schädigend und abnorm. Zucker $^1/_6$, LiCl $^1/_8$, $CaCl_2$ $^1/_{10}$, sowie Naac $^1/_8$ zeigen vielfach die abnorm großen ringförmigen Urmundbildungen mit scharfem Rand, die wir als *Riesenurmund* bezeichnet haben, später werden wir noch genauer auf diese Wirkung eingehen, sie tritt meist erst auf dem Stadium des halbmondförmigen Urmunds deutlich zutage.

Freilich ist bisher noch nicht bewiesen, daß unsere Annahme, daß die Permeabilitätsverhältnisse zu Beginn der Gastrulation sich ändern, zu Recht besteht. Es könnte ja sein, daß erst eine geraume Zeit vergehen muß, bis die Salze soweit in die Zellen eingedrungen sind, um chemische Wirkungen auszuüben. Diese Annahme ist freilich unwahrscheinlich deshalb, da die Wirkung der verschiedensten Chemikalien stets zu gleicher Zeit und zwar etwa bei Beginn der Gastrulation erkennbar war. Daß freilich eine gewisse Dauer der Einwirkung nötig ist, um chemische Wirkungen erkennbar zu machen, zeigen in der Tat Eier, die auf dem Stadium des halbmondförmigen Urmunds nach etwa 24 Stunden Verweilen in Salzlösung in reines Wasser gebracht wurden. Obwohl bis zu dem Augenblick der Herausnahme aus der Salzlösung keine Wirkung sichtbar war, lassen sich hier chemische Nachwirkungen deutlich erkennen. Doch ist dabei zu bedenken, einmal, daß das Stadium des halbmondförmigen Urmunds erst einige Stunden nach Beginn der Gastrulation erreicht wird, zum zweiten, daß in der Gallerthülle zweifellos die Chemikalien nicht sofort ausgespült werden, so daß die Einwirkung der Salze nicht in dem Augenblick der Herausnahme aus den Salzlösungen erlischt.

Es handelt sich also darum, die Empfindlichkeit der verschiedenen Embryonalstadien auf die Chemikalien miteinander zu vergleichen.

Eier: die negative Wirkung auf Ei und Morula hatten wir schon besprochen. Dauer der Salzeinwirkung dabei etwa 36 bis 50 Stunden.

Spätmorulae: Kurz vor Urmundbildung (2 Stunden vor Urmundbeginn) zeigen nach 24 Stunden Salzeinwirkung in Salzlösungen von $^1/_8$ und $^1/_{16}$ mol. (Naac $^1/_8$, $^1/_{16}$, Zucker $^1/_8$, $^1/_{16}$) deutlich den spezifisch retardierenden Einfluß dieser Lösungen sowie gesteigerte Empfindlichkeit gegen schädigende Medien wie $CaCl_2$ $^1/_{10}$, das stark schädigend und abtötend wirkte. In anderen Versuchen (noch drei Versuchsreihen zu je 50 Eiern) ergaben sich gleiche oder ähnliche Ergebnisse.

Eier im Stadium des *halbmondförmigen* Urmunds: nach 24 Stunden Salzwirkungen zeigen sich im allgemeinen ähnliche Wirkungen, wenn auch etwas schwächer (drei Versuchsreihen, je etwa 50 Eier).

Endgastrulae nach 24 Stunden Salzwirkung deutliche Beeinflussung erkennbar, auch die qualitativ verschiedene Wirkung der einzelnen Chemikalien

z. B. Zucker usw. kommt zur Geltung (fünf Versuchsreihen je etwa 50 Eier), doch zeigen die Endgastrulae eine geringere Empfindlichkeit gegen schädigend wirkende Salzlösungen z. B. $CaCl_2$ $^1/_{16}$, in dem vielfach eine Entwicklung bis zum Embryo erfolgt, der dann erst abstirbt.

Medullarplatten, qualitativer Einfluß auf die Art der Neurulation, geringe Empfindlichkeit gegen $CaCl_2$ $^1/_{10}$. Bei den Medullarplatten scheinen im wesentlichen die Reaktionen auf die Zellen der Medullarplatte beschränkt zu sein. Überhaupt läßt sich die Art der Faltung der Neurulation weitgehend beeinflussen, ohne daß im wesentlichen die übrigen Entwicklungsvorgänge stark in Mitleidenschaft gezogen würden. Eigenartiger Weise wirkt hier NaCl in stärkeren Konzentrationen viel stärker schädigend auf die Nervenzellen als Naac-Lösung von gleicher Konzentration.

Versuche über eventuelle Nachwirkungen der angewandten Chemikalien ergaben folgendes:

Eier nach 20stündiger Salzwirkung in reines Wasser zurückgesetzt ließen keinerlei Wirkung während ihrer Weiterentwicklung erkennen. Entwicklung bis zu freischwimmenden Embryonen; normal wie im Kontrollversuch. (Verwandt wurden Naac $^1/_8$, $^1/_{16}$, Zucker $^1/_8$, $^1/_{16}$, $CaCl_2$ $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ mol.)

Spätmorulae nach 24 Stunden Salzwirkung Einbringen in reines Wasser, deutliche Nachwirkung bei Zucker, geringere bei Naac, $CaCl_2$ durchweg tödlich wirkend.

Eier, die 36 Stunden in Salzlösung bis zum Urmundbeginn gehalten wurden, ließen geringe Nachwirkung erkennen.

Sämtliche Versuche zeigen demnach das gleiche Resultat: Geringe Empfindlichkeit der Eier, keine Nachwirkungen auf chemische Reize. Deutlicher Einfluß chemischer Reize auf Gastrulae und spätere Stadien. Dabei lassen sich Abstufungen erkennen.

Die Eier selbst reagieren am wenigsten, während Morulae im Stadium der Urmundbildung am empfindlichsten sind. Die Empfindlichkeit nimmt dann während der Gastrulation ab, und die Endgastrulae und Medularplatten zeigen Beeinflußbarkeit im wesentlichen nur in ihren Medullarplattenzellen, während die allgemeine Resistenz z. B. gegen $CaCl_2$ wieder stark zugenommen hat.

Solche Änderungen der Empfindlichkeit sich entwickelnder Embryonalstadien auf äußere Reize, vor allem solche chemischer Natur, sind schon von verschiedenen Autoren beschrieben worden. Besonders hat *A. Fischel* (1915) bei Seeigeleiern (*Strongylocentrotus lividus*) in ganz analoger Weise zwei Perioden unterschieden; die erste reicht bis zur Urmundbildung, dient zur Materialzerlegung des Eis und sei durch mechanische Momente bedingt; die zweite, vom Beginn der Gastrulation ab, sei charakterisiert vor allem durch chemische Umsetzungen. In zweierlei Hinsicht zeigen seine Ergebnisse Übereinstimmungen mit den meinen, nämlich: chemische Reize und Einwirkungen erzielen ihre Wirkung erst nach der Urmundbildung, und Eier sowie junge Furchungsstadien zeigen erst bei bedeutend längerer Salzwirkung Nachwirkungen, lassen also eine geringere Permeabilität

erkennen. Aber auch Eier, die bei Einbringen in normale Verhältnisse Nachwirkungen der Salzlösungen erkennen ließen, bei denen also ein gewisses Eindringen der betreffenden Substanzen in die Zellen anzunehmen war, zeigten diese Wirkung erst nach Beginn der Gastrulation, wogegen in der ersten Entwicklung durchaus keine Änderung vom Normalen auftrat. Wir haben also in den *Fischel*schen Ergebnissen an *Strongylocentrotus lividus* durchaus analoge Resultate zu buchen: 1. Unbeeinflußbarkeit der Eier und Furchungsstadien auf chemische Reize, 2. Geringere Permeabilität der Furchungsstadien, 3. Gesteigerte Durchlässigkeit der Gastrula und Neurula, erkennbare Reaktionsfähigkeit auf chemische Reize und 4. Deutlichwerden chemischer Reizerfolge von solchen Reizen, die schon im Furchungsstadium eingewirkt haben, erst während dieser zweiten „chemischen Periode" der Gastrulation und Neurulation. Ein geringer Unterschied zeigt sich vielleicht darin, daß in meinen Versuchen Froscheier selbst nach 20stündiger Einwirkung der Salzlösung keinerlei Nachwirkungen erkennen ließen, also anzunehmen ist, daß bei den Froscheiern die Zellpermeabilität während der ersten Entwicklungsperiode noch schärfer herabgemindert ist im Vergleich zum Seeigel, bei welchem sich in den meisten Fällen erwies, daß die Chemikalien zwar eingedrungen waren, doch während der ersten Periode keine Wirkungen entfalten konnten.

Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der Entwicklungsstadien bei *Froscheiern* haben dann *Romeis* (1917) und neuerdings *J. Deutsch* (1923) bei Einwirkung organischer Extrakte beschrieben. Besonders *J. Deutsch* hat Organextrakte (Thyreoidea, Ovarium, Thymus usw.) auf verschiedene Stadien in etwa $^1/_4$ ‰ Konzentration einwirken lassen und hat stärkste Beeinflussung der Gastrulae, geringere auf Neurulae, geringste bei Eiern erhalten. *Deutsch* kommt daraufhin zu ähnlichen Schlußfolgerungen wie *Fischel*, ist sich nur nicht ganz klar, ob zur Ausdeutung seiner Ergebnisse die Wirkung osmotischer Beeinflussung eventuell mit in Frage käme. Es ist zu erwähnen, daß diese Organlösungen in viel geringeren Konzentrationen $^1/_4$ ‰ schon deutliche Wirkung zeigten und, daß bei diesen so geringen Konzentrationen osmotische Beeinflussungen nicht maßgebend gewesen sein können, wie die bisher besprochenen Salzlösungen zeigen, die bis zu einer Konzentration von $^1/_6$ mol. noch keinerlei derartige Wirkung zur Folge hatten.

Eine weitere Beobachtung führte zu Ergebnissen, die in derselben Richtung sich deuten lassen. Größenschwankungen der Eier während der Embryonalentwicklung, die mir zuerst 1922 bei Triton aufgefallen waren, führten zu *Messungen* über die Volumenveränderung der Eier, die im wesentlichen zu den gleichen Schlüssen nötigen wie die eben besprochenen Chemikalienversuche.

Nachdem zuerst an einer großen Anzahl von Eiern durch Messung festgestellt worden war, daß bei Froscheiern nach einer anfänglichen Abrundung und leichten Volumenzunahme bis zur Beendigung der Morula das Volumen annähernd gleich bleibt, sowie daß nachher bei der Gastrulation eine sehr bedeutende Größenzunahme einsetzt, die ihr Maximum im Zustand der Endgastrula erreicht hat, wurden an 6 Eiern durchlaufende Messungen vom befruchteten Ei bis zum ausschlüpfenden Embryo ausgeführt (Abb. 4). Die Messungen zeigten einwandfrei, daß etwa bis zum Auftreten des Urmundes das Volumen des Eis gleichbleibt. Dann setzt erst langsam, dann rascher eine ganz außerordentliche Größenzunahme ein, die mit dem Stadium der Endgastrula ihr Maximum erreicht hat. Während der Neurulation ist beim Frosch keine wesentliche Volumenänderung zu bemerken. (Im Gegensatz zu Triton siehe später.) Diese Messungen zeigen also ebenfalls einen durchgängigen Unterschied im Verhalten der Entwicklungsstadien. In der ersten Periode des Gleichbleibens des Volumens darf man wohl annehmen, daß nicht allzuviel aus der Umgebung in das Ei hineingelangt, während die starke Volumenzunahme während der Gastrulation eine gesteigerte Wasserabsorption durch den sich entwickelnden Embryo fordert.

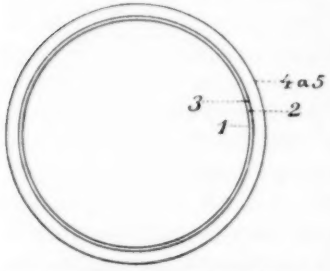


Abb. 4. Größenmessungen: *1* Größe des Eies, *2* Spätmorula, *3* Anfangsgastrula, *4* Endgastrula, *5* Medullarplatte. *Rana temporaria.*

Nach alledem darf man wohl folgendes sagen: Während der ersten Entwicklung des Frosches (und des Tritons siehe später) lassen sich zwei Perioden voneinander trennen; die erste, die die Stadien der Furchung und Morulabildung umfaßt und charakterisiert ist durch weitgehende Unabhängigkeit gegen äußere Einflüsse, vor allem solche chemischer Art, die also im Experiment im allgemeinen lediglich auf physikalische Einwirkung anspricht, sofern wir nicht lipoidlösliche Substanzen auf sie einwirken lassen. Wir können von ihr aussagen, daß sie charakterisiert erscheint durch weitgehende Impermeabilität der Zellen und Unbeeinflußbarkeit auf chemische Reize. Ich möchte sie hier der Einfachheit halber als *physikalische* Periode bezeichnen.

Die zweite Periode, die mit Beginn der Gastrulation einsetzt, ist im Gegensatz dazu charakterisiert durch weitgehende Beeinflußbarkeit auf chemische Reize der verschiedensten Art, durch starke Wasserabsorption und Abhängigkeit von äußeren Einflüssen. (Hemmung der Entwicklung durch entquellende Mittel, Beschleunigung durch destilliertes Wasser.) Wir bezeichnen sie hier als *chemische* Periode.

Diese Änderung der Permeabilitätsverhältnisse des Amphibieneies, die zugleich mit dem Eintritt der Gastrulation einsetzt, ist zweifellos recht interessant und eventuell geeignet, uns über den Vorgang der Gastrulation ein klareres Bild zu verschaffen (zumal diese Vorgänge nicht auf die Amphibieneier beschränkt erscheinen). Damit steht ferner sicherlich im Zusammenhange, daß sich bei der Gastrulation der osmotische Druck innerhalb des Amphibieneies in weitgehendem Maße ändert. Nach den Analysen von *Backman* und *Runnström* findet eine starke Senkung des osmotischen Druckes der Amphibieneier bei der Befruchtung, eine fast ebenso rasche Steigerung hinwiederum bei der Gastrulation statt. Auch dies deutet darauf hin, daß bei der Gastrulation sich die Verhältnisse innerhalb des Amphibieneies in grundlegender Weise ändern. Es ist bezeichnend, daß man auch von ganz anderen Gesichtspunkten heraus bei Bastardierungsversuchen usw. zu einer ähnlichen Unterscheidung zweier Entwicklungsperioden gekommen ist (*Boveri*, *G.* u. *P. Hertwig*, *Penners* usw.).

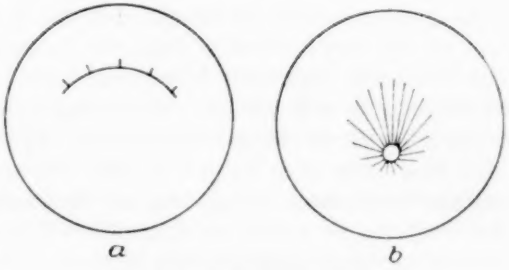


Abb. 5. Gastrulation normal.

Indes möchte ich mir hier noch nicht erlauben, mich über den Vorgang der Gastrulation, der in letzter Zeit namentlich von *Spemann*, *Vogt* und *Mangold* untersucht und einem weiteren Verständnis zugeführt worden ist, eingehender auszulassen, da mir hierzu noch wesentlich genauere Versuche nötig erscheinen, als ich sie zur Zeit durchgeführt habe. Ich möchte hier nur einige experimentelle Anomalitäten besprechen, die mir lehrreich zu sein scheinen, sowie einiges Tatsächliche beibringen.

Die normale Gastrulation der Amphibien (hauptsächlich an Triton untersucht) ist charakterisiert durch das Auftreten eines breiten mehr weniger halbmondförmigen Urmundspaltes, der sich zum ringförmigen Urmund umbildet und schließlich durch exzentrischen Urmundschluß verschwindet. Dieser exzentrische Urmundschluß kommt (*Vogt* 1922) in der Weise zustande, daß die an die Urmundränder stoßende Randzone sich unter Längsstaffelung der Zellpartien streckt und sich gleichzeitig um die Urmundränder umrollt. Da nun die dorsale Partie die größte Streckung erleidet, kommt ein exzentrischer Urmundschluß zustande, wie ihn Abb. 5 darstellt. Doch ist zu bemerken, daß auch seitlich und ventral Streckung und Urmundschluß ebenfalls, wenn auch in geringerem Maße durchgeführt wird (Abb. 5).

Anscheinend unabhängig von dieser Streckung der äußeren Randzone wird der Vorgang der Gastrulation eingeleitet durch einen Invaginationsakt bestimmter Entodermzellen, der das erste Auftreten der Urmundspalte zur Folge hat.

Wir hätten also zwei Faktoren: 1. Invagination und Auftreten des Urmundrandes, 2. Streckung, Materialverschiebung, Einrollung, Urmundschluß. Beide Faktoren sind normalerweise aneinander gekettet, können aber eperimentell voneinander isoliert werden (*Vogt*).

Angesichts dieser Tatsache gewinnen unsere experimentell erzeugten sogenannten „Riesengastrulae" an Interesse. Wir sehen nämlich an ihnen, daß hier der eine Vorgang, nämlich der der *Invagination* der Entodermzellen, durchgeführt worden ist, wogegen der zweite, der endgültig die Gastrulation zu Wege bringt, die *Streckung* und Einrollung unterbleibt. Wodurch wird die Streckung bewirkt und wie kommt es, daß in unserm Falle die Invagination durchgeführt wird, die Streckung wegfällt? Wir beschränken uns auf den Vorgang der Streckung, da sich hierbei einige tatsächliche Angaben machen lassen. Experimentell ist festgestellt worden (*Spemann*, *Vogt* usw.), daß es sich hier nicht um Zellvermehrung, sondern eigentlich um ein Auswalzen bestimmter Zellpartien in caudocranialer Richtung handelt, da implantierte runde Stücke während der Gastrulation zu langen, schmalen Streifen umgebildet werden; wir können hier ruhig von Auswalzen reden, da es sich anscheinend um eine passive Bewegung, einen den ganzen Keimbezirk beeinflussenden Druck handelt, welchem die Zellen in der Richtung auf den Urmund hin ausweichen. Natürlich ist Vorbedingung dazu die *Möglichkeit* des Ausweichens, eine gewisse Gleitbarkeit der Zellen aneinander vorbei, die bestimmte Eigenschaften dieser Zellen erfordert. Man kann dabei einmal eine gewisse Streckung der Zellen in der Wanderungsrichtung erkennen, vor allem aber sehen, daß die Zellage des Urmunddaches sich verdünnt, indem z. B. bei Triton die vorher zweischichtige dorsale Wand einschichtig wird, während beim Frosch, dessen dorsale Wandpartien aus einer dunklen, pigmentierten Deckzellenlage und einer darunterliegenden 3—4 Zellen starken Grundschicht besteht, die Grundschicht sich bis auf 1—2 Zellendicke verringert. Es findet also ein Einwandern der unten liegenden Zellen zwischen die Außenzellen statt, ein Vorgang, der zweifellos eine gewisse Verschiebbarkeit, Gleitbarkeit der Zellen verlangt.

Nun haben wir festgestellt, daß mit Beginn der Gastrulation eine Vergrößerung, eine Wasserabsorption von außen in die Gastrula hinein einsetzt, und zugleich gezeigt, daß damit im Zusammenhang die Zellen auf chemische Einflüsse sehr rasch und typisch reagieren. Wir haben daher aus diesem Grunde eine weitgehende Änderung in den

Permeabilitätsverhältnissen der Zellen im Sinne einer Permeabilitätssteigerung postuliert. Wenn wir uns vorstellen, daß durch diese Permeabilitätssteigerung der Zellen Wasser teils in die Zellen selbst eindringt, teils durch die Zellen hindurch oder zwischen ihnen vorbei ins Innere der Gastrula hineinkommt, so können wir wohl annehmen, daß durch diesen Vorgang einmal eine leichte Verschiebbarkeit der Zellen die Folge sein muß, zum zweiten, daß das diosmotisch eindringende Wasser einen gewissen Druck auf die Außenwände ausüben muß, der sich einmal in der festgestellten Volumenvergrößerung ausdrückt, andererseits bei der Verdünnung der Wandstärke und dem Dazwischenschieben der Zellen der Innenschicht in die Außenlage die nötigen Vorbedingungen liefert. Dadurch würde aber erst die Streckung der Randzone ermöglicht werden. Also: Permeabilitätssteigerung, Eindringen von Wasser, Erhöhung der Gleitbarkeit der Zellen, wäre die Vorbedingung, die erfüllt sein muß, wenn die Gastrulationsstreckung erfolgen soll. Wird diese Vorbedingung gestört, so muß die Streckung unterbleiben; die Invagination aber braucht, da sie ein selbständiger Vorgang ist, nicht notwendig in Mitleidenschaft gezogen zu werden.

Es fragt sich nun, durch welche Mittel die „Riesengastrulae" erzeugt werden können. Sie können einmal durch physikalischen Wasserentzug, also durch jede beliebige Salzlösung bewirkt werden, sofern die Konzentration dieser Salzlösung zum exosmotischen Wasserentzug ausreicht, andererseits das Ei in seiner Entwicklung noch bis ins Stadium der Gastrula hineinkommt. Es scheint erklärlich, daß solche durch Exosmose erzeugte Riesengastrulae dann am häufigsten sich bilden, wenn die Eier bei Beginn der Urmundbildung den experimentellen Bedingungen ausgesetzt werden.

Dann aber erwiesen sich sämtliche entquellend oder verfestigend wirkende Lösungen als geeignet, Riesengastrulae zu erzeugen, mit der Einschränkung, daß einzelne, wie LiCl diese Mißbildung in besonders typischer Weise erzielten, andere, wie Naac geringeren Erfolg hatten. Auch hier erwies sich die Einwirkung der Salzlösungen auf Eier, die im Begriff der Urmundbildung waren, besonders wirksam, sei es, daß dadurch vorhergehende Schädigung und Hemmung der Invagination vermieden wurde, sei es, daß die relativ konzentrierten Lösungen, die hierbei verwandt wurden, Naac $^1/_6$, Zucker $^1/_6$, $CaCl_2$ $^1/_8$, $^1/_{10}$ daneben noch osmotischen Einfluß hatten.

Bei folgenden Lösungen ergaben sich mehr oder weniger häufig Riesengastrulae: Einwirkungen der Lösung auf *Eier*, Aufzucht, Naac $^1/_6$, $^1/_8$, Zucker $^1/_6$, $^1/_8$, $CaCl_2$ $^1/_6$, $^1/_8$, $^1/_{16}$. Einwirkungen auf *Anfangsgastrulae*, Exosmose. NaCl $^1/_4$, LiCl $^1/_4$, Naac $^1/_4$, $CaCl_2$ $^1/_6$. Einwirkung auf *Anfangsgastrulae*, chemische Einwirkung. Zucker $^1/_6$, Naac $^1/_6$, $^1/_8$, $CaCl_2$ $^1/_8$, $^1/_{10}$.

Ohne auf die Einzelheiten einzugehen, können wir kurz sagen, alle angewandten Mittel sind imstande, entweder exosmotisch Wasser zu entziehen oder aber entquellend oder gelatinierend (Zucker), d. h. verfestigend zu wirken. (Bei LiCl, das etwas aus dem Rahmen fällt, dürfte seine starke Fällungswirkung hier maßgebend sein.) Durch diese verfestigende Wirkung würde aber dann einmal die gegenseitige Verschiebbarkeit der Zellen herabgemindert, andererseits würde die Durchlässigkeit der Zellen herabgesetzt und dadurch das Eindringen des Wassers verhindert; kurz, die Vorbedingungen der Streckung sind nicht mehr erfüllt; die Invagination aber scheint in der Tat unbeeinflußt zu sein. Dadurch ergibt sich dann folgendes Bild. Zuerst setzt dorsal die Invagination ein, es bildet sich die dorsale Urmundlippe, d. h. der dorsale Umschlagsrand, die Streckung dagegen bleibt infolge der Imprägnierung der Zellen mit den erwähnten Salzlösungen aus und damit natürlich auch der Urmundschluß. Dann beginnt sich seitlich der Invaginationsakt auszubilden und schließlich ventral, so daß ein großer, ringförmiger Urmund entsteht, da der Urmundschluß unterbunden ist, während normaler Weise seitliche und ventrale Urmundinvagination erst einsetzt, wenn sich der Urmund durch die zeitlich vorher einsetzende dorsale Streckung zusammengezogen hat.

Daß diese Erklärung in ihren Grundzügen richtig ist, scheint mir folgendes zu beweisen. Falls man diese Riesengastrulae rechtzeitig, d. h. solange sie nicht zu weit geschädigt sind, aus den Salzlösungen in frisches Wasser setzt, beginnt nun auch der zweite Akt, nämlich die Streckung, wieder einzusetzen. Wir haben aber jetzt insofern ab norme Zustände, als dorsal, seitlich und ventral die Urmundränder gleich weit ausgebildet sind, da die Entwicklung jeweils auf dem gleichen Stadium sistiert wurde. Es kann daher nicht wundernehmen, daß nunmehr dorsaler, seitlicher und ventraler Umschlagsrand sich etwa in gleichem Tempo weiterentwickeln, so daß die dorsale Urmundlippe keinen merkbaren Vorsprung vor der ventralen besitzt und infolgedessen ein ziemlich konzentrischer Urmundschluß zustande kommt, die ventrale Urmundlippe sich also viel weiter als normal umstülpt (Abb. 6). Leider haben sich meine Riesengastrulae in keinem Falle bis zur Neurulabildung entwickelt.

Wenn ich auch nicht leugnen will, daß normalerweise von vornherein die Umschlags- und Streckungstendenz der ventralen Urmundlippe geringer zu sein scheint, so ergibt sich doch jedenfalls dadurch, daß auch der Zeitpunkt der Differenzierung für die Vorherrschaft der Streckung der dorsalen Urmundpartie mit maßgebend ist.

Es ist nun interessant, daß auch in den Fällen, in denen ein typischer Riesenurmund nicht zustande kam, die erwähnten Salzlösungen in gleichem Sinne, wenn auch in schwächerem Maße, die sich

entwickelnde Gastrula beeinflussen. Sie wirken also durchweg im Sinne einer *Hemmung* der *Streckungstendenz* der Urmundrandpartien; dadurch wird natürlich ein vollständiger Urmundschluß verhindert. Die dorsalen Partien rollen sich nicht weit genug um, und es bleibt ein abnorm großer Urmundrest, ein Dotterpfropf übrig, der in mehr oder minder großer Ausbildung sich je nach der stärkeren oder schwächeren Wirkung der entsprechenden Salzlösung bildet und auch bei der Neurulation und Embryobildung am hinteren Körperpol übrig bleibt.

Das heißt aber, wir haben in diesem Falle eine Wirkung erzielt, welche schon *O. Hertwig* bei NaCl-Lösungen über 0,6%, *Bataillon* bei Zuckerlösungen, *Wilson* bei Zucker- und LiCl-Lösungen usw. erreicht haben und die meist dadurch erklärt wurden, daß die betreffenden Chemikalien auf die Dotterhemisphäre stark schädigend eingewirkt

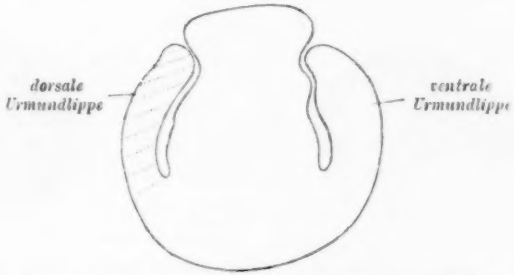


Abb. 6. Weiterentwicklung der „Riesengastrulae" nach Zurücksetzen in reines Wasser. Die ventrale Urmundlippe ist übernormal und etwa gleich weit wie die dorsale entwickelt.

haben sollten und so ein Einbeziehen dieser Teile in den Urmund verhindert hätten. Bei NaCl- und LiCl-Lösungen sind in stärkeren Konzentrationen allerdings erheblich schädigende Wirkungen besonders auf die Medullarplattenzellen zu konstatieren, bei Zuckerlösungen dagegen habe ich eine solche nie erhalten. Dennoch erzielten sowohl diese Forscher wie ich bei Zuckeranwendung verzögerten Urmundschluß, Dotterpfropf, sowie schließlich bei extremer Ausbildung Spinae bifidae, in denen der Urmund so groß war, daß seitlich von ihm sich Medullarwülste ausbildeten. In allen diesen Fällen ist also zu konstatieren, daß die Streckung der dorsalen und seitlichen Randpartien stark gehemmt war, dadurch wurde ein weiterer Urmundschluß verhindert und es entwickelte sich ein Embryo, der durch die Streckungshemmung eine stark verkürzte Ektodermpartie aufwies, d. h. wir haben es in diesem Falle weniger mit einer Schädigung der Dotterpartie zu tun, sondern mit der erwähnten Hemmung der Streckungsprozesse und damit eine Bildung, die sich in die Reihe verzögerter Urmund, Dotterpfropf, Spina bifida, Riesenurmund zwanglos einfügen läßt, und

die sich aus der jeweils graduierten Hemmungswirkung der Zucker- oder anderen Lösungen erklären läßt.

Interessant ist diese Reihe deshalb, da wir hier bei der geringeren Hemmung eine im übrigen normale Weiterentwicklung des Embryos konstatieren können, die Hemmungsprozesse sich also ausschließlich auf die *Streckung* der Urmundpartien beschränken, ohne weitere Folgen auf die übrigen Zelldifferenzierungs- und Zellteilungsprozesse zu zeigen. Das deutet aber natürlich ziemlich einwandfrei darauf hin, daß in der Tat die physikalisch-chemische Verfestigung der Plasmakolloide die Streckungserscheinungen verhinderte und, daß umgekehrt gesteigerte Zelldurchlässigkeit, Wasserabsorption und Zellgleitbarkeit die notwendigen Vorbedingungen der Zellstreckung und Gastrulation sind, wie postuliert wurde.

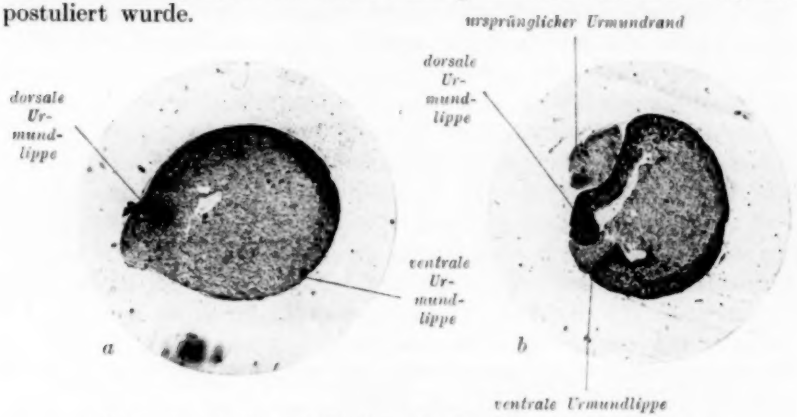


Abb. 7. Invagination nach Zerstörung des Urmundes vom Wundrand aus *a* Beginn, *b* späteres Studium.

Es bleibt noch übrig, ganz kurz auf zwei Erscheinungen einzugehen, die freilich schon zum Teil bekannt sind. Die eine zeigt, daß die Urmundränder nicht in dem Sinne präformiert sind, daß sie nicht durch die angrenzenden Zellpartien ersetzt werden könnten. Bei Verletzung kleinerer oder auch ziemlich ausgedehnter Natur mit Hilfe einer glühenden Nadel, die auf den sich bildenden Urmundrand gesetzt wurde, wurden die sich invaginierenden Zellen durch die jeweils am Wundrande befindlichen ersetzt, die sich dann normal einstülpten und einen normalen Entwicklungsverlauf gewährleisteten (Abb. 7). Eigenartig war bloß, daß mitunter ein angefangener Urmundrand, der zum Teil zerstört war, auch an seinem *intakten Ende* verlassen wurde und in einiger Entfernung davon ein frischer Urmund gebildet wurde, der nun sich zum regulären Urmund entwickelte, während der frühere sich ausglättete und rückgebildet wurde (Abb. 8). Es spricht dies wohl stark dagegen, daß das invaginierende Moment in diesen äußer-

lichen Zellen, die sich einstülpen, selbst gelegen sein sollte. In dem Falle würde ein Verlassen und Ausglätten des beginnenden Urmundrandes sowie Neubildung seitlich davon nach Zerstörung seitlicher und tieferer Partien unverständlich erscheinen. Dagegen erscheint

Abb. 8. Rückbildung seitlicher intakter Urmundpartien nach teilweiser Zerstörung des Urmundes und Neubildung seitlich davon.

das Resultat erklärlich, wenn wir den dynamischen Vorgang den ganzen Keimbezirk beherrschen lassen, da dann infolge Zerstörung und Verschiebung größerer Zellenmassen die physiologischen Verhältnisse weitgehend verändert erscheinen. Auch die Form der Oberflächenbilder der sich bildenden Urmundfalte des Froscheies, die anfangs durchaus nicht glatte Ränder bilden, sondern je nach Form und Gestalt, sowie den physikalischen Verhältnissen der Oberfläche entsprechend verschieden ausgezackte Ränder und Seitenfalten zeigen, lassen es als wahrscheinlich erachten, daß die Einstülpungsursache mehr im Innern des Keimes liegt und ihre mechanische Wirkung sich nach Art einer Zugwirkung auf die sich invaginierenden Zellen auswirkt (Abb. 9).

Abb. 9. Oberflächenbilder eben sich bildender Urmundfalten. Die unregelmäßige, der Gestalt der Zellen angepaßte, Kontur ist sichtbar.

Die zweite Tatsache ist eine eigenartige Bildung, die ich bei Behandlung und Aufzucht der Eier in Gelatinelösung von $^1/_2 - ^1/_4$% erzielt habe, ohne vorläufig darin klar zu sehen. Es erfolgt nämlich dabei einmal eine weit über das normale ausgedehnte Volumenvergrößerung der Gastrulae, zum zweiten eine damit zusammenhängende verstärkte Zwischenwanderung der Innenzellen in die Außenschicht, so daß z. B. der Urmund eher verschwand als nach der übrigen Entwicklung der Gastrula normalerweise geschehen wäre, und die Wandstärke dadurch dünner als normal erschien. Eine Entwicklung zur

Neurula wurde dabei nicht beobachtet. In diesen Fällen erschien also umgekehrt zu den bisher besprochenen die Streckungstendenz, vor allem aber auch das Dazwischenschieben der unteren Zellen in die Außenschicht und die dadurch bedingte Volumenvergrößerung und Einrollung der Außenzone um den Urmundrand ungestört, während hier die Zelldifferenzierungsprozesse, die Ausbildung der Medullarplatte und der anderen Embryonalentwicklung unterbunden waren. Dadurch kam in einigen Fällen eine Gastrulabildung zustande, die man sozusagen als „Übergastrula" zu bezeichnen versucht ist, da hier diejenigen Prozesse (Streckung, Dazwischenwandern von Zellen der Innenschicht in die Außenlage, Volumenvergrößerung, Wasserabsorption usw.), die zur Einrollung und Gastrulation führen, über das normale gesteigert sind. Wir haben hier also Steigerung der Streckungstendenz, Störung der Zelldifferenzierung, während in den ersten Fällen Hemmung der Streckungstendenz, ungestörte Zelldifferenzierung zu konstatieren war.

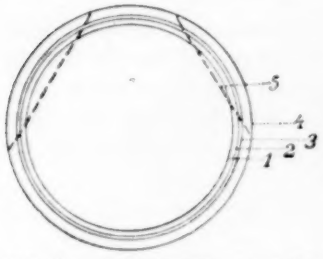


Abb. 10. Größenmessungen: *1* Ei, *2* Spätmorula, *3* Anfangsgastrula, *4* Endgastrula, *5* Medullarplatte. *Triton alpestris.*

Zum Schluß möchte ich hier noch als Nachtrag gewissermaßen die etwas vom Frosch abweichenden Größenverhältnisse beim Tritonei anführen, da ich darauf schon andeutungsweise zu sprechen kam und ich im übrigen Triton nicht besonders behandeln will, da er im wesentlichen in der ersten Entwicklung, soweit ich das übersehen kann, mit dem Frosch übereinstimmt.

Nach erst mehr gelegentlicher Messung an einer großen Anzahl von Individuen wurden eine Anzahl Eier systematisch bis zur Embryobildung täglich zweimal nachgeprüft. Die Zahlen ergaben durchweg die gleichen Resultate und zwar sowohl für *Triton alpestris* wie für *Triton taeniatus*, der zur Bestätigung herangezogen wurde.

6 *Triton alpestris*, Zeichnung Zeichenapparat, ungefurchtes Ei bis Embryo. 15 *Triton alpestris* Messung mit Okularmikrometer, Ei bis Embryo. 5 *Triton taeniatus* Zeichnung Zeichenapparat, Ei bis Embryo.

Die ersten Teilungsschritte zeigen bis zur Endmorula nur ganz unwesentliche Volumenzunahme und Abrundung zur Kugelgestalt. Mit dem Beginn der Gastrulation setzt eine anfangs geringe, später (Spät- bis Endgastrula) sehr bedeutende Zunahme des Volumens ein. (Größtes Stadium-Endgastrula.) Mit Beginn der Medullarplattenbildung erfolgt eine anfangs geringe, dann bei Zusammenwölbung der Medullarfalten eine bedeutende Volumenabnahme des Embryos, besonders der seitlich-dorsalen Partien. Der fertige Embryo behält dann anfangs sein Volumen bei, um später wieder anzuwachsen (Abb. 10).

Zusammenfassung.

1. Während der ersten Embryonalentwicklung sind zwei Perioden zu unterscheiden. Die erste umfaßt Furchung und Morulabildung und zeichnet sich durch weitgehende Impermeabilität der Zellen aus. Festgestellt: Unbeeinflußbarkeit auf chemische Reize, Gleichbleiben des Volumens, keinerlei Nachwirkung bei Einwirkung von anorganischen Salzlösungen und Zucker während dieser Embryonalperiode. Wir bezeichnen sie hier als *physikalische* Periode, da sie lediglich physikalischer Beeinflussung (Wasserentzug) zugänglich erschien. (Mit Ausnahme lipoidlöslicher Substanzen, deren Wirkung auch in dieser Periode sichtbar war.) Mit Beginn der Gastrulation scheinen sich die Permeabilitätsverhältnisse der Zellen grundlegend zu ändern. Begründung: Empfindlichkeit auf chemische Reize, starke Volumenzunahme, Wasserabsorption und typische Nachwirkung bei Einwirkung von Salzlösungen = *chemische* Periode.

2. Die Gastrulation zerfällt bekanntlich in zwei normalerweise miteinander verknüpfte Prozesse, erstens in eine Invagination der Entodermzellen des Urmundrandes, zweitens eine Streckung und Zellverschiebung der dorsalen und seitlichen Urmundrandpartien. Durch experimentelle Unterdrückung des Streckungsvorganges lassen sich sogenannte „Riesengastrulae" erzeugen, diese sind charakterisiert durch scharfe, ringförmige Ausbildung des Urmundrandes, ohne daß es zu einem Urmundschluß kommt. Die Streckung wird verhindert durch Eindringen wasserentziehender und verfestigender Lösungen oder exosmotischen Wasserentzug. Dadurch wird die Wasserabsorption gehemmt, die Gleitbarkeit der Zellen herabgesetzt und der ganze Streckungsvorgang sozusagen durch Imprägnation dieser Zellenmassen sistiert; wogegen die Invagination ungestört vollendet wird, so daß schließlich dorsaler, seitlicher und ventraler Urmund gleich weit ausgebildet erscheinen, da die Hemmung des Entwicklungsprozesses auf demselben Stadium der beginnenden Streckung einsetzt. Durch Aufhebung der Salzwirkung läßt sich eine, allerdings geringe, Weiterentwicklung erzielen. Es kommt zu einer wieder einsetzenden Streckung, die nunmehr, da die dorsale und ventrale Urmundlippe annähernd gleich weit entwickelt sind, zu einer fast gleichen Ausbildung der dorsalen und ventralen Gastrulaeinrollung führen; was dafür spricht, daß für die verschieden starke Einrollung der dorsalen und ventralen Urmundpartien im normalen nicht nur eine verschieden starke Einrollungstendenz, sondern auch die zeitlich spätere Differenzierung der ventralen Urmundlippe mit maßgebend ist.

3. Die Riesengastrulae stellen nur das Endglied einer Reihe dar, welche durch *Hemmung der Streckungstendenz* entsteht. Durch graduierte Salzeinwirkung läßt sich eine allmählich sich steigernde Hem-

mung der Streckung erzeugen, die sich in die Reihe „verzögerter Urmundschluß, Dotterpfropf, Spina bifida, Riesengastrula“ äußert. Experimentell erzeugte Anomalien, *O. Hertwig* usw., werden hierdurch verständlich.

4. Der Vorgang der *Streckung* der Urmundrandpartien erscheint demnach als ein durch die Änderung der Permeabilitätsverhältnisse bei Beginn der Gastrulation bedingter Vorgang. Erhöhung der Permeabilität, Wasserabsorption, Zellgleitbarkeit ermöglicht ein Zentrifugalwandern und Dazwischenschieben der unteren Ektodermzellen zwischen die Außenschicht, dadurch aber ein Entstehen von Spannungsverhältnissen, welche bei einmal gegebener Zellgleitbarkeit ein Ausweichen der Zellpartien vor dem Druck verständlich machen. Also Permeabilitätserhöhung, Wasseraufnahme, Gleitbarkeit, Zentrifugalwanderung führen zu Faltung und Streckung, Unterdrückung dieser Prozesse durch wasserentziehende und verfestigende Mittel ergibt eine Hemmung der Einstülpung zur Gastrula, während die übrigen Zelldifferenzierungsprozesse weitergehen können. Wird dagegen die Zelldifferenzierung ohne Störung der Streckungstendenz unterbunden, so können Endgastrulae entstehen, die wir hier als „Übergastrulae“ bezeichnet haben.

5. Die Invaginationsstelle der Urmundlippen ist bekanntlich determiniert, doch nicht in dem Sinne, daß sie nicht durch andere Zellen der Randzone — nach weitgehender Zerstörung des sich bildenden Urmunds — ersetzt werden könnte. Die Tatsache, daß dabei gelegentlich nach weitgehender Zerstörung des Urmundrandes seitliche *intakte Partien* der Urmundlippe, die lebensfähig bleiben, als Urmundrand ausgeglättet werden und sich in einiger Entfernung davon ein neuer Urmund bildet, deutet mit großer Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß das invaginierende Moment nicht in diesen äußerlichen, sich invaginierenden Zellenmassen selbst zu suchen ist. Ebenso spricht der den äußerlich herrschenden mechanischen Verhältnissen sich anpassende Umschlagsrand in seinem ersten Entstehen sehr zugunsten dieser Anschauung, daß das invaginierende Moment im Keiminnern zu suchen sei.

Literatur.

1. *Deutsch, Jos.:* 1923, Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **100**, 302. — 2. *Fischel, H.:* 1915, Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **41**, 312. — 3. *Gellhorn, E.:* 1922, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **196**, 374. — 4. *Hertwig, O.:* 1895, Arch. f. mikroskop. Anat. **44**, 285. — 5. Ders.: 1906, Handbuch d. Entwicklungslehre **1**, 967. — 6. *Mangold, O.:* 1923, Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **100**, 198. — 7. *Morgan, Th.:* 1904, Entwicklung des Froscheies. Leipzig, Engelmann. — 8. *Spemann, H.:* 1918, Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **43**, 448. — 9. *Vogt, W.:* 1922, Verhandl. d. dtsch. zool. Ges. Würzburg S. 49. — 10. Ältere Autoren s. *O. Hertwig* und *Morgan*.

Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien.

II. Neurulation bei Rana und Triton.

Von

H. Giersberg, Breslau.

Mit 21 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. März 1924.)

Der leitende Gedanke der vorliegenden Untersuchung über die Neurulation bei *Rana* und *Triton* ist der gleiche wie im ersten Teil dieser Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien, nämlich der, durch physikalisch-chemische Beeinflussung der Plasmakolloide abgeänderte physikalische Bedingungen zu schaffen und die Wirkung dieser abgeänderten physikalischen Bedingungen auf die Faltenbildungen in der Embryonalentwicklung, hier also der Neurulation zu untersuchen. Lassen sich aber durch solche Einwirkungen typische Abänderungen der Faltenbildung erzielen, so darf man hoffen, durch Analyse dieser Abänderungen Rückschlüsse auf die normalen Verhältnisse ziehen zu können und somit der Frage der *Dynamik* dieser Prozesse näher zu kommen.

Man hat sich schon ziemlich früh mit dieser Frage gerade bei der Neurulation beschäftigt. So waren z. B. *Goette* (74) und *His* der Ansicht, daß die Medullarplatte durch Seitenschub gewissermaßen aufgerollt, mehr oder weniger passiv zusammengefaltet werde. Indessen hat man seit *Roux* (85) fast allgemein diesen Gedanken aufgegeben, um nunmehr die Ursache der Faltenbildung in der Medullarplatte selber zu suchen, freilich ohne sich näher darüber auszulassen. Ursache dafür war zweierlei, einmal glaubte *Roux* bei der geringeren Mächtigkeit des Ektoderms im Verhältnis zur Medullarplatte dieses nicht für den Seitenschub verantwortlich machen zu können, zum zweiten erhielt er nach Herauspräparation einer Medullaranlage aus einer Hühnerkeimscheibe sogar einen verfrühten Schluß des Neuralrohrs im Vergleich zum normalen Geschehen. Damit war allerdings bewiesen, daß ein rein mechanischer Seitendruck sagen wir durch Wachstum und Volumenvergrößerung des Ektoderms nicht die alleinige Ursache der Neuralrohrfaltung sein konnte, aber auch *Goette* und *His* haben sich die Medullarplattenfaltung nicht so rein mechanisch vorgestellt. Aus diesem Versuch aber zu schließen, daß unbedingt das faltende Moment in der Medullarplatte selbst liegen müsse, halte ich

so lange nicht für zwingend, als es nicht einwandfrei nachgewiesen ist, daß bei einer solchen Herauspräparation der Medullarplatte tatsächlich *nur* Medullarplattenzellen isoliert wurden und nicht auch die angrenzenden Zellen des Ektoderms mit herausgenommen wurden. Versuche, die ich selber an Tritonkeimen angestellt habe, ergaben mir in den Fällen, in denen tatsächlich lediglich die Medullarplatte ohne angrenzende Zellen herausgenommen wurde, ein frühes Absterben dieser Zellen, während ich einen Verschluß der herauspräparierte Medullarplatte in den Fällen erhielt, bei denen außer der Medullaranlage noch mehr oder weniger Deckschichtzellen des angrenzenden Ektoderms erhalten waren. Das Absterben erfolgte stets vom Rande aus und konnte sich im letzteren Falle so lange verzögern, daß tatsächlich ein Verschluß der Medullarwülste erfolgte. Dennoch konnte ich aus diesen Versuchen keinerlei Schlüsse ziehen, da die lebenden Zellen der isolierten Randschicht sich stets nach einwärts krümmten und auf diese Weise eine Grenzschicht, also einen mechanischen Abschluß bildeten, wodurch die Verhältnisse beim normalen Keim mehr oder weniger nachgeahmt schienen.

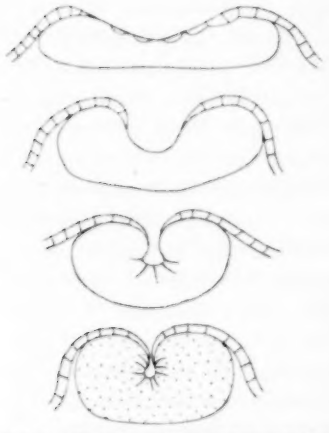


Abb. 1. Frosch, aufeinanderfolgende Stadien der Neurulation. Sämtliche Abbildungen mit Ausnahme von 20 und 21 sind mit Zeichenapparat gezeichnet.

Ich glaube daher, daß aus dem erwähnten Versuche lediglich hervorgeht, daß eine Volumenvergrößerung des Ektoderms und dadurch rein mechanisch bewirkter Seitendruck nicht wohl die einzige Veranlassung der Medullarrohrfaltung sein könne. Damit wäre aber nur eine von vornherein recht unwahrscheinliche Ansicht ausgeschaltet. Es fragt sich nun aber, welcherlei Kräfte als faltendes Prinzip überhaupt in Frage kommen können?

Betrachten wir die Bilder, wie sie Präparate durch sich faltende Medullarplatten ergeben (Abb. 1), so läßt sich daran allerdings nicht erkennen, ob „innere" d. h. in der Medullarplatte liegende oder „äußere" Kräfte dabei wirksam sind, denn es ist verständlich, daß z. B. eine elastische Gelatineplatte sowohl „von sich selbst" d. h. also durch einseitige Quellung und Volumenvergrößerung sich derart krümmen und schließlich eventuell ganz einfalten könnte, oder aber durch Seitenschub von außen in diese Lage passiv gedrängt werden könnte. Daß in der lebenden aus Zellen zusammengesetzten Medullarplatte noch andere Faltungsmöglichkeiten liegen, als in der leblosen Gela-

tine, ist selbstverständlich, und es sollte das Beispiel lediglich anzeigen, daß aus der äußeren *Form* der Faltung im Normalen kein Rückschluß auf „äußere" oder „innere" Kräfte so ohne weiteres zu ziehen ist.

Betrachten wir nun zunächst diejenigen Ursachen, die bei einer Kräftewirkung *innerhalb* der Medullarplatte selber in Frage kämen. Als erstes käme wohl eine lokale Differenzierung der Medullarplatte in Betracht dergestalt, daß die Innenschicht der Platte an Volumen im Vergleich zur Außenschicht stärker zunimmt und auf diese Weise eine Krümmung und Einfaltung der elastischen Medullarplatte in die Wege leitet. Solche einseitige Volumenzunahme wäre einmal auf dem Wege der *Zellvermehrung* oder aber auf dem Wege der *Zellvergrößerung* zu denken. Im ersten Falle müßten sich also Zellteilungsvorgänge nachweisen lassen, während im zweiten Falle Quellung, Wasserabsorptionsvorgänge u. dgl. verantwortlich gemacht werden könnten. Eine weitere Möglichkeit wäre, daß der Faltungsprozeß auf Grund *aktiver Verschiebung* der Medullarplattenzellen, also durch Wachstum, bzw. Zellwanderungsprozessen durchgeführt würde.

Der erste Weg der Zellvermehrung erschien aus dem Grunde unwahrscheinlich, daß zwar in vielen Fällen Zellteilungsvorgänge nachzuweisen sind, daß aber diese Zellteilungsvorgänge durchaus nicht auf die sich ausdehnende Innenseite (die dann bei der Faltung natürlich nach außen kommt), beschränkt sind, sondern meist regellos verteilt bzw. sogar mehr auf der sich einkrümmenden Außenfläche zu bemerken sind. Dagegen erschien mir die Möglichkeit, daß Wasserabsorptions-, also Quellungsvorgänge zur einseitigen Volumenvergrößerung führen könnten, vorzuliegen und zugleich auch die Möglichkeit gegeben, diese Frage experimentell zu entscheiden. Es ergab sich also das Problem, dergleichen Quellungsvorgänge nach Möglichkeit zu verhindern, ohne Zellteilungs- und Zelldifferenzierungsprozesse gänzlich zu unterbinden. Wir hätten also uns die Aufgabe zu stellen, Wasserabsorptionsvorgänge und Zellteilungsprozesse voneinander zu isolieren.

Eine solche Untersuchungsmöglichkeit dachte ich mir durch experimentelle Veränderung der Quellungsverhältnisse der organischen Zellkolloide gegeben. Solche experimentelle Beeinflussung könnte durch solche Reagenzien geschehen, die erfahrungsgemäß ähnliche Wirkungen auf organische Kolloide auszuüben imstande sind; wobei allerdings noch die Zellpermeabilität, die Möglichkeit des Eindringens der Chemikalien, die Möglichkeit der pathologischen Schädigung und dergleichen zu beachten war. Ich möchte mich hier über die Natur und die Konzentration der angewandten Mittel, welche erst längere Vorversuche erforderlich machten (s. Beitrag I) nicht näher auslassen. Hier sei nur erwähnt, daß tatsächlich eine derartige Beeinflussung sich als

möglich erwies. Mit einer solchen Beeinflussung der Quellungsvorgänge der organischen Zellkolloide muß sich nun naturgemäß auch die Elastizität der ganzen Medullarplatte ändern und es läßt sich erwarten, daß in der Art und Weise der Faltung der experimentell in ihren Elastizitätsverhältnissen veränderten Medullarplatte Rückschlüsse auf die Kräfteverteilung und Kräftewirkung, welche diese Faltung bewirken, sich ziehen lassen. Rückschlüsse, die zunächst vielleicht nur für die experimentell veränderten Verhältnisse berechtigt sind, die aber dann mit großer Wahrscheinlichkeit, wenn nicht Sicherheit auch auf das normale Geschehen anzuwenden sind, falls es gelingt, die erforderlichen Übergänge vom normalen bis extrem veränderten Verhalten experimentell zu erzielen.

Frosch, natürlicher Modus.

Die natürliche Vorbedingung zum Studium und zur Beurteilung experimentell abgeänderter Vorgänge muß selbstverständlich die Kenntnis des normalen Geschehens bilden, dessen Beschreibung daher zunächst obliegt. Mit Ausbildung der Gastrula und der erfolgten Differenzierung der drei Keimblätter lassen sich im *Ektoderm* der Froschgastrula zwei Schichten unterscheiden, erstens eine äußere festgefügte Lage prismatischer Zellen, die sogenannte Deckschicht und zweitens die darunter liegende ein bis zwei Lagen starke Grundschicht, die aus rundlichen bzw. polygonalen, lockerer zusammenhängenden Zellen besteht. Dabei ist die Dicke der Grundschicht seitlich und ventral etwas stärker als dorsal, wo sie im Stadium der Endgastrula meist nur eine Zellenlage mächtig ist.

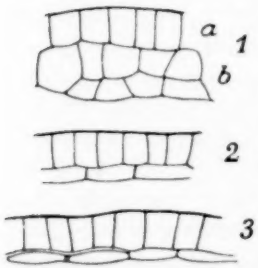


Abb. 2. Ventrales Ektoderm. *a* Deckschicht, *b* Grundschicht, *1* Endgastrula, *2* Beginn der Medullarplattenbildung, *3* fertige Medullarplatte.

Im Bereiche der *Grundschicht* macht sich nun eine Veränderung bemerkbar, die zur Bildung der Medullarplatte bzw. des Zentralnervensystems führt. Die ursprünglich ein bis zwei Zellagen starke Grundschicht verdünnt sich seitlich und ventral durchweg auf eine Zellage, die Zellen selber werden niedriger (Abb. 2), schließlich vollkommen abgeplattet und auseinandergezogen, so daß erkennbar wird, daß nur ein Bruchteil der Grundschichtzellen seitlich und ventral zwischen Deckschicht und Mesoderm übrig bleibt. Alle übrigen Grundschichtzellen *wandern dorsal* und häufen sich in der Grundschicht des oberen Keimblattes rechts und links der sich bildenden Chorda, des sogenannten Achsenstranges an. Unmittelbar über dem Achsenstrang behält die Grundschicht ihre ursprüngliche Mächtigkeit bei, wohl aus

dem Grunde, daß hier Chorda und Ektodermzellen ziemlich innig zusammenhängen, während seitlich ein solcher festerer Zusammenhang zwischen Mesoderm und Ektoderm fehlt, so daß hier die heraufwandernden Zellen der Grundschicht nur geringen Widerstand erfahren und sich daher anhäufen können. Es entstehen also auf diese Weise zwei *seitliche Anschwellungen* in der dorsalen Partie des Ektoderms, die sich ziemlich deutlich von dem angrenzenden Ektoderm abheben, und deren Wölbung (Abb. 3 *b*) im wesentlichen nach innen gerichtet ist. Diese Grundzellenanhäufungen, die breiter angelegt werden als die ausgebildete Medullarplatte, besitzen vorläufig noch keinen festeren Zusammenhang mit der Deckschicht des dorsalen Ektoderms (Abb. 3 *a*).

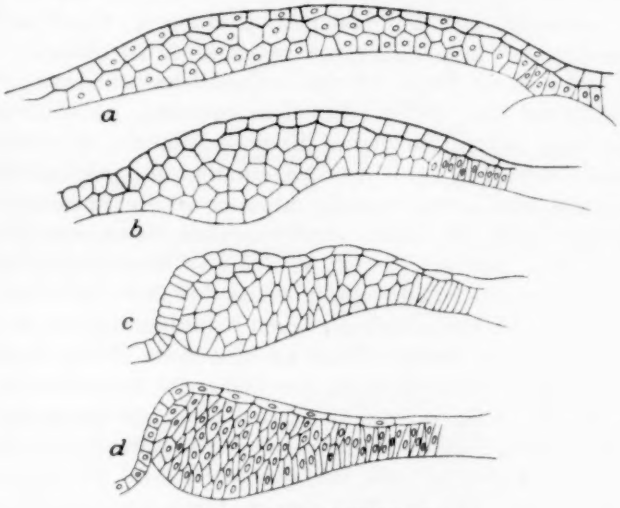


Abb. 3. Medullarplattenbildung.

Nach vorn in der späteren Kopfregion und hinten sind die Anschwellungen miteinander verbunden. Die ganze, deutlich abgrenzbare Anlage stellt eine in der Mitte verdünnte, seitlich nach innen ausgebauchte und ins angrenzende Ektoderm mehr oder weniger zugespitzte Platte, die zukünftige Medullarplatte dar, welche bekanntlich die erste Anlage des Zentralnervensystems bedeutet.

Da die Ansammlung der Wanderzellen in der Grundschicht der zukünftigen Medullarplatte durch Vorwölbung der Grundschicht nach innen ermöglicht worden ist, hat sich bisher das Oberflächenrelief des Eies noch kaum geändert. Es treten aber jetzt zwei weitere Prozesse auf, von denen der zweite meines Wissens bisher noch keine Beachtung gefunden hat, die aber zusammen erst zur Ausbildung der oberflächlich erkennbaren Medullarplatte und damit der Medullarwülste

und Rückenrinne führen. Der eine schon von *Goette* erwähnte ist, die zwar anfänglich nicht sehr deutliche doch immerhin erkennbare *Verengerung* des seitlichen Querdurchmessers des Embryos (Abb. 21), womit gleichzeitig eine Verlängerung der Längsachse verbunden ist. Der zweite ist eine relative Verbreiterung der äußeren Partien der sich zusammenziehenden Medullarplatte. Dies geschieht einmal durch eine Vermehrung der Medullarplattenzellen, deren Einfluß beim Frosch allerdings gering zu erachten ist, sowie hauptsächlich dadurch, daß die breiten Grundzellenanhäufungen sich seitlich von unten zusammenschieben, zugleich mit dem darüberliegenden Ektoderm festeren Zusammenhang gewinnen und sich gewissermaßen von unten her in den Medullarplattenverband einkeilen, dadurch aber natürlich die äußeren Partien verbreitern, wie dies besonders deutlich an dem Auseinandergezerrtwerden der Deckschichtzellen zu erkennen ist (Abb. 3 *c*, *d*). Die zunächst erkennbare Folge ist eine allmähliche Schichtung und Gestaltveränderung der Zellen der Medullarplatte. Die indifferente, rundliche bzw. polygonale Form dieser Zellen, die bei Beginn der Medullarplattenbildung noch deutlich erhalten ist, geht allmählich in eine längliche über, deren Querdurchmesser in der Richtung der Bewegung liegt, d. h. die Zellen werden seitlich zusammengepreßt und passiv verändert und geschichtet, so daß deutlich erkennbar wird, wie die vorher ungeordnete und relativ ungestörte Medullarplatte starken *Spannungsverhältnissen* unterliegt, deren Richtung sich an der Gestalt und Anordnung der diesem Druck nachgebenden Zellen ablesen läßt (Abb. 3 *c*, *d*). Diese Umschichtung der Zellen ist zuerst in der Mittellinie erkennbar, dort, wo die Chordazellen an die Achsenplatte anstoßen, erst später erfolgt dann auch die Umordnung der Zellen in den verbreiterten Partien der Medullarplatte.

Versuchen wir uns ein Bild der angedeuteten Druckwirkung zu entwerfen: Wir hätten den Fall verwirklicht, daß eine in der Mitte starr befestigte und fixierte elastische Platte von beiden Seiten komprimiert wird und zugleich selber sich auszudehnen sucht. Es ist klar, daß bei der konvexen Eioberfläche die elastische Platte, soweit sie überhaupt dem Druck auszuweichen vermag, sich nach außen wölben muß; da nun der Mittelpunkt der Platte fixiert ist, wird eine Hervorwölbung der beiden Plattenhälften die notwendige Folge sein, wie denn auch tatsächlich bei der Neurulation zuerst die Bildung der Rückenrinne, d. h. eines Spaltes an der Stelle, an der der Achsenstrang mit der Medullarplatte fest verbunden ist erkennbar wird und dadurch zwei seitliche Vorwölbungen der Medullarplatte deutlich werden (Abb. 4, 2). Andererseits wird aber auch der von der sich ausdehnenden Medullarplatte auf seine Begrenzungsflächen ausgeübte Druck seine Wirkung ausüben müssen, um so mehr natürlich, je

stärker die Medullarplatte sich auszudehnen sucht. Da die beiden Medullarplattenhälften in der Mitte starr miteinander verbunden sind, vermögen sie trotz ihrer Ausdehnung diesen Verbindungspunkt nicht zu verschieben. Immerhin ist charakteristisch, daß hier zu allererst die Druckwirkung in Gestalt von länglich gepreßten und in Zugrichtung angeordneten Zellen mit langgepreßten Kernen sichtbar wird, lange bevor die seitlichen Zellen der Medullarplatte solche Wirkung zeigen (Abb. 3 *b*). Dagegen ist die Wirkung des Druckes der sich verbreiternden Medullarplatte auf die angrenzenden Außenzellen sehr deutlich. Diese werden merklich zusammengestaucht, zurückgestoßen und über die Eioberfläche herausgedrückt. Dadurch wird zweierlei erreicht. Einmal, der nach außen gedrückte Bogen der Medullarplattenhälften wird ein wenig ausgeglichen, da die Medullarplatte jetzt einen größeren Raum einnehmen kann, zum zweiten entsteht eine *Doppelwölbung*, da nunmehr außer der konvexen Wölbung der Medullarplatte auch die seitlichen Begrenzungen im Bogen über die Eioberfläche hinaustreten (Abb. 4, *3*). Es entsteht auf diese Weise das charakteristische Bild der Doppelwölbung, das sehr bald nach Auftreten der Rückenrinne auf der Oberfläche des Eies zu erkennen ist. Diese Verhältnisse lassen sich besonders schön an dem Verhalten der sogenannten *Deckschicht*, die ja als prismatische, eng aneinanderliegende Schicht die Grundschicht bedeckt, ablesen. Anfänglich sind die Deckzellen im ganzen Bereich der Dorsalfläche des Eies einander gleich. Mit Ausdehnung der Medullarplatte aber werden sie naturgemäß seitlich auseinander gezogen, verbreitert und flacher, während die Deckzellen der angrenzenden Haut zurückgestaucht und gepreßt, seitlich zusammengedrückt, verschmälert erscheinen. Zugleich findet eine gewisse Zurückwölbung der Eioberfläche statt, wie sie aus der angegebenen Darstellung natürlich erscheint (Abb. 4, *4*).

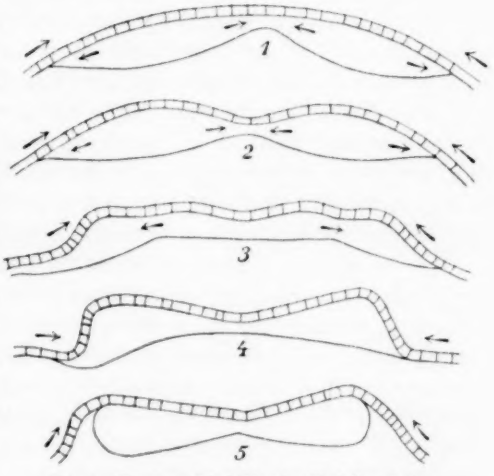


Abb. 4. Umrisse sich bildender Medullarplatten.

Die Ausdehnung der Medullarplatte infolge Vermehrung oder Volumenvergrößerung ihrer Zellen, die übrigens in sehr verschiedenem Maße in den verschiedenen Körperteilen des Embryos vor sich geht,

hält weiter an und dient dann naturgemäß dazu einmal, das angrenzende Ektoderm weiter zurückzudrücken und zweitens, die konvexe Wölbung der Medullarplatte selber noch mehr abzuflachen. Durch den Widerstand, den die sich verbreiternde Medullarplatte an den Grenzflächen erfährt, wird ferner die Begrenzung der Grundschicht schärfer, so daß schließlich die dargestellten Verhältnisse genügen, die fertige „Medullarplatte" herauszumodellieren, die deutlich und scharf über die Eioberfläche heraustritt, und in ihrer in der Mitte verdünnten, nach außen verbreiterten Form an zwei *Keile* erinnert, die in der Mitte mit ihrem dünnen Ende zusammenstoßen (Abb. 4, 5). Die Herausmodellierung ist besonders deutlich vorn, in Gegend der Nackenbeuge, während sie hinten weniger zutage tritt, da hier die erwähnten Entwicklungsprozesse, vor allem die Ausdehnung der Medullarplatte nicht so stark in Erscheinung treten, während in Gegend des Kopfes die überaus starke Ansammlung der Grundschicht, die zur späteren Hirnbildung verwendet wird die Keilform etwas verwischt. Als letzter und weiterer Faktor kann eventuell noch die Verdickung des Mesoderms herangezogen werden, welches allmählich mehr Raum beansprucht und dadurch eventuell die Medullarplatte über die Eioberfläche herauszudrücken imstande sein könnte.

Ich möchte natürlich dahingestellt sein lassen, ob diese von mir dargelegte Auffassung in allen Einzelheiten den Tatsachen entspricht. Immerhin können wir als sicher feststellen: Erstens eine *dorsale Wanderung* der Grundschichtzellen des Ektoderms, zweitens ein *seitliches Komprimieren* des Eies, drittens ein *Ausdehnung* der Medullarplatte selber durch Vermehrung und Volumenzunahme ihrer Zellen und Einwanderung von Grundzellen in die Grundschicht der Medullarplatte. Aus deren Zusammenwirkung sich dann meines Erachtens das dargelegte Bild ergibt, wozu eventuell noch eine gewisse Wirkung des sich vermehrenden Mesoderms kommen könnte.

Es folgt jener Prozeß, der zur Einfaltung des Neuralrohrs und zur Vereinigung der aufeinanderzu wachsenden Medullarfalten führt, also die „Neurulation" des Embryos. Die Medullarplatte tritt dabei in ihren Konturen immer deutlicher hervor, die Ränder wölben sich auf, nähern sich und verwachsen schließlich (Abb. 1). Es läßt sich aber aus der Betrachtung dieses Stadiums nicht ohne weiteres herauslesen, welcherlei Kräfte diese Auffaltung und Neuralrohrbildung bewirken. Im allgemeinen begnügt man sich mit der Vermutung, daß *innere* d. h. in der Medullarplatte *selbst* lokalisierte Kräfte die Neuralrohrbildung verursachen. Eine Vermutung, die wohl im wesentlichen auf dem schon beschriebenen Versuche *Roux* mit der herauspräparierten Medullarplatte des Hühnchens beruht.

Es ist ersichtlich, daß die Bildung des Neuralrohres ebensogut

aus Kräften, die innerhalb der Medullarplatte gelegen sind, wie von „außen" her, d. h. durch Zellkräfte, die außerhalb der eigentlichen Medullarplatte gelegen sind, angreifende Entwicklungsvorgänge erklärt werden kann, da die Art der Faltung bestimmtere Schlüsse nicht erlaubt. Von den innerhalb der Medullarplatte selber gelegenen Entwicklungsfaktoren käme einseitige Ausdehnung, durch Wasserabsorption oder Zellvermehrung oder aktive Zellwanderung in Frage; während Zellvermehrung und Zellwanderung auch als von außen her angreifende Faktoren wirksam sein könnten. Man hat sich, wie gesagt, daran gewöhnt, die bewirkenden Faktoren in die Zellen der Medullarplatte zu verlegen, ohne genaueres über ihre Natur auszusprechen. Eine solche genauere Aussage läßt sich eben aus der Betrachtung der natürlichen Entwicklung heraus kaum geben.

Immerhin läßt sich einiges aus den natürlichen Verhältnissen herauslesen. Einmal zeigt die an den Zellen des Neuralrohres deutlich erkennbare Druckverteilung, daß von einer einseitigen Ausbildung durch polare Quellung (siehe Gelatineplatte) oder lokale Zellvermehrung wohl kaum die Rede sein kann. Denn eine solche Faltung müßte durch lokales Anwachsen des Druckes bzw. der Ausdehnung an einem Ende der Zellen erreicht werden und demnach die sich zusammenkrümmenden Enden der Medullarplatte passiv mechanisch aufeinander zugedrückt werden.

Abb. 5. Zonare Druckverteilung. *I* geringster, *III* stärkster Druck.

Die Druckverteilung innerhalb des sich faltenden Medullarohres ist aber eine derartige, daß gerade diese aufeinanderzu sich bewegenden Enden deutlich undifferenzierte runde, bzw. polygonale Zellen enthalten, mit rundem Kern, und deutlich erkennen lassen, daß gerade hier die Druckverhältnisse am geringsten sind. Am stärksten macht sich der Druck an den Biegungsstellen rechts und links der Chorda geltend, weniger stark in der Mitte und am wenigsten, wie gesagt, an den Enden der Medullarplatte (Abb. 5). Damit wäre aber die Möglichkeit nahe gerückt, die Faltung aus *Zellwanderungsvorgängen* zu erklären, die im besagten Ende der Medullarplatte zu lokalisieren wären, da dergleichen Zellwanderungsvermögen am ehesten undifferenzierten Zellen zugeschrieben werden müßte, während dies von passiv mechanisch gedehnten und auseinandergezogenen Zellen recht unwahrscheinlich wäre. Diese Möglichkeit ist also offen zu halten.

Dann läßt sich erkennen, daß die Ektodermdeckschicht des übrigen Eies sich verdünnt, daß deren Zellen immer gestreckter werden und demgemäß einen größeren Raum einnehmen, was angesichts der Tatsache, das infolge des Schlusses des Neuralrohrs tatsächlich der

von den Deckzellen umgrenzte Raum größer wird, nicht wunder nimmt. Hier wäre natürlich die Frage zu entscheiden, ob dieses Auseinanderziehen passiv durch Zug der Medullarplatte heraus erklärt werden müßte, oder aber, ob hier aktives Zellwandern der Oberhautdeckzellen anzunehmen sei. Eine eigentliche *Zellvermehrung* innerhalb der Deckschicht ist jedenfalls nicht wahrzunehmen.

Die Bildung des Neuralrohres läßt vorläufig dergleichen Fragen durchaus offen. Nach Schluß des Neuralrohres dagegen setzt deutlich ein nachweisbarer Druck des Mesoderms von beiden Seiten auf das Nervenrohr ein, der die vorher runde Kontur seitlich abschrägt und zusammenpreßt (Abb. 6). Zugleich damit tritt eine starke Streckung des Froschembryos ein. Vielleicht darf man diesen Druck auf das geschlossene Neuralrohr und dessen dadurch bewirkte Substanzverlagerung nach der Längsachse für die jetzt eintretende starke Längsstreckung des Embryos verantwortlich machen. Daß jedenfalls ein Druck von außen her auf das Neuralrohr ausgeübt wird und nicht etwa ein Zug in der Längsrichtung maßgebend ist, erhellt aus der nach außen abgeschrägten Kontur (Abb. 6).

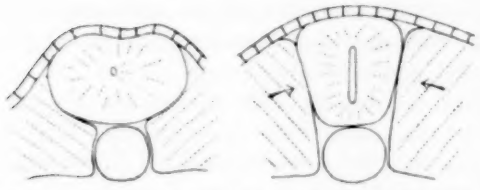


Abb. 6. Abschrägung des Neuralrohres durch Mesodermdruck.

Frosch, experimentelle Abänderung der Neurulation.

Zucker.

Da ein Bild der Kräfteverteilung bzw. der Ursachen, welche die Neurulation zur Folge haben, sich aus dem natürlichen Verhalten nicht ohne weiteres herauslesen läßt, handelt es sich darum, experimentell die *Elastizitätsverhältnisse* der sich einfaltenden Medullarplatte zu verändern und an den Folgeerscheinungen Rückschlüsse auf die Natur der die Neurulation bewirkenden Kräfte zu ziehen. Als besonderes günstiges Mittel zu Erzielung einer solchen Wirkung erwies sich Rohrzucker in Konzentration bis zu $^1/_6$ mol. sowie Natrium acetat ebenfalls bis zu $^1/_6$ mol. Da die Einwirkung dieser Lösungen auf Eier bis zum Furchungsstadium durchweg die Wirkung hatte, die Entwicklung bei Beginn der Gastrulation aufzuheben, wurden spätere Stadien, Spätmorulae und Anfangsgastrulae zu den Versuchen hauptsächlich verwandt. Hier sollen zuerst die Zuckerversuche besprochen werden. (Im ganzen wurden etwa 1800 experimentell beeinflußte Eier genauer untersucht, von denen 211 in Schnittserien zerlegt wurden, dazu kommt noch etwa die gleiche Zahl von Schnittserien aus dem

Jahr 1922.) Rein äußerlich ließ sich bei den experimentell behandelten Eiern und zwar besonders bei solchen, welche entweder im Spätmorula- und Frühgastrulastadium in Zuckerlösung gesetzt wurden, erkennen, daß die Faltung der Medullarplatte viel deutlicher wurde. Die Konturen der sich einfaltenden Platte wurden hart, eckig; die Falten *steif* ohne eigentliche Wölbung, wie sie im natürlichen Modus deutlich hervortritt, und dadurch wurde natürlich die absolute Höhe der Neuralrohrfalten über der Eioberfläche erhöht.

Die Eier dagegen, die erst im Endgastrulastadium oder zu Beginn der Medullarplattenentwicklung der Zuckerlösung ausgesetzt wurden, zeigten vielfach ein durchaus anderes Aussehen, indem hier die Medullarfaltung durch Auftreten einer zentralen Vorwölbung jeder Me-

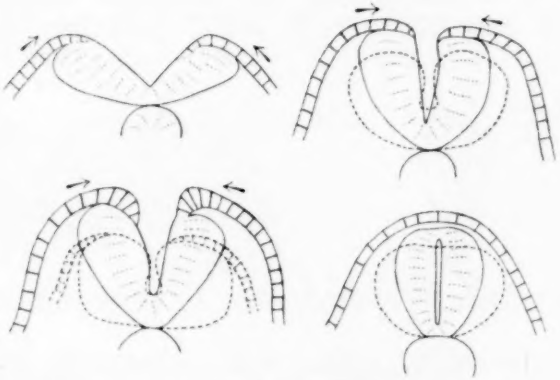


Abb. 7. Neuralfaltung. Zuckerwirkung. Zusammenklappen der Medullarplattenhälften. Normale Kontur durch Strichelung angedeutet.

dullarplattenhälfte ein durchaus atypisches Bild ergab. In beiden Fällen erwies sich der Schluß des Neuralrohrs weitgehend *gehemmt* im Vergleich zu dem übrigen Entwicklungsstadium des Embryos; so daß z. B. durchaus entwickelte Embryonen mit deutlichen Saugnäpfen noch offene Neuralfalten zeigten. Doch wurde in beiden Fällen schließlich trotzdem ein völliger Schluß des Neuralrohrs erzielt und eine Weiterentwicklung des Embryos durchgeführt. Im Schnittpräparat (im ganzen 57 Serien) ergab sich folgendes: Diejenigen Eier, welche auf den frühen Stadien, Spätmorula, Frühgastrula in die Zuckerlösung gesetzt waren und die schon äußerlich erkennen ließen, daß durch Fortfallen der konkaven Wölbung die beiden Teile der Medullarplatte gleichsam wie Bretter emporgehoben und einander genähert wurden, zeigten dies im Schnittpräparat in besonders deutlicher Weise (Abb. 7). Die Anordnung der Zellen innerhalb der Medullarplatte blieb die gleiche, wie zu Beginn der Medullarplattenbildung. Die Bewegung

der beiden Medullarplattenhälften, deren innere Kontur hart, brettartig wirkte und jede Ausbiegung vermissen ließ, geschah in der Art, daß diese beiden Hälften als *Ganzes* sich aufeinander zubewegten, ohne irgendwelche Änderung in ihrem inneren Aufbau erkennen zu lassen, indem sie gewissermaßen wie in einem Scharniergelenk, wie Blätter eines Buches aufeinanderzu bewegt wurden. Es wurde also auf diese Weise die ursprüngliche *Keilform* (Abb. 4, *4*, *5*) vollkommen ohne Änderung beibehalten und ein Schluß des Neuralrohrs lediglich durch Drehung der beiden Hälften um ein Gelenk aufeinanderzu bewirkt.

Vergleichen wir diese Befunde mit Versuchen, wie sie *His* an Pappe- und Gelatineplatten durchgeführt hat (Abb. 8). Durch Seitenschub erhielt er typische Faltenbilder, die je nach der Wahl des Materials in charakteristischer Weise sich änderten. Bei der Ver-

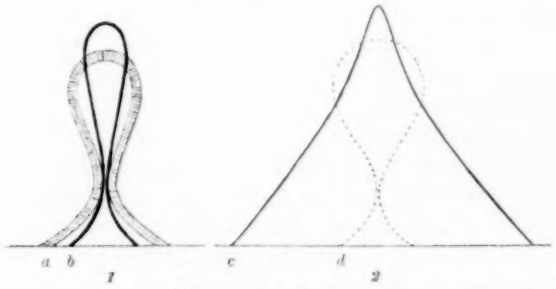


Abb. 8. Faltenbildung: *a* Gelatine, *b* Bleiplatte, *c* Pappe, *d* Papier, nach *His*.

wendung unelastischer Platten wurde die Faltung steifer, die Wölbung verschwand, während die elastische Gelatine z. B. geschwungene Konturen und deutliche Auswölbung erkennen ließ. Kurz wir haben in diesen an leblosem Material erzeugten Faltungsbildern Analoga zu der normalen Neurulation einmal — siehe Gelatinefaltung — sowie zu der experimentell durch die Zuckerwirkung veränderten Medullarrohrbildung (Pappe). Das heißt aber, der experimentelle Befund der Aussteifung und Aufrichtung der Falten, sowie des Verschwindens der Wölbung erklärt sich aus einem Versteifen und Unelastischerwerden des Materials, d. h. hier der Medullarplatte, eine Wirkung, die ja bei Zuckerverwendung zu erwarten ist. Doch wird das Resultat nur in dem Falle verständlich, wenn wir einen Seitendruck von außen annehmen; mit der Annahme einer in der Medullarplatte gelegenen Ursache ist es dagegen durchaus unvereinbar. Es läßt sich somit mit ziemlicher Berechtigung die Tatsache eines Druckes von außen erschließen, der die beiden Medullarplattenhälften aufeinanderzu bewegt. Welcher Art dieser Druck ist, ergibt sich bei einigen Schnitten, in

denen deutlich eine Überwallung der Medullarplattenhälften durch das vorwachsende Hornblatt zu sehen ist. Wir müssen also hier in dem *Aufeinanderzuwachsen* des *Ektoderms* des Eies die bewegende Kraft vermuten. Deutlicher wird dies zum Teil in einigen Präparaten, in denen aber noch die Wirkung einer zweiten Kraft zu sehen ist (Abb. 9). Wir sehen hier einmal die sehr deutliche Überwallung der Medullarplattenhälften durch das aufeinanderzu wandernde Ektoderm, das die zähe Medullarplatte nicht ganz hat mitziehen können. Zugleich erkennen wir hier, daß die ursprüngliche Kontur nach außen flach, nach innen zu gewölbt nicht beibehalten ist. Die Innenflächen sind abgeschrägt, glatt, während die Außenkontur schwach konvex, gewölbt erscheint, im Unterschied zu dem flachen Außenrand der erstbesprochenen Zuckertiere und der konkaven Wölbung bei der natürlichen Entwicklung. (Außen und Innen im Sinne der sich anlegenden Medullarplatte.)

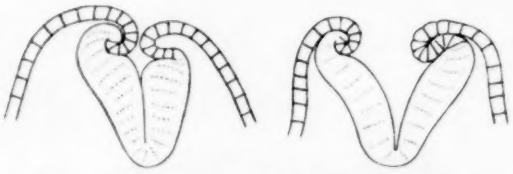


Abb. 9. Gastrulae in Zucker 1/6 mol.-Medullarplattenentwicklung.

Erklärlich werden diese Präparate, wenn wir sie mit solchen vergleichen, die wir von Embryonen erhalten, welche im Endgastrulastadium oder zu Beginn der Medullarplattenbildung in die Zuckerlösung gebracht wurden, und die, wie wir schon sagten, im Oberflächenbild eine deutlich konvexe Wölbung der Medullarplattenhälften erkennen ließen. Im Schnitt ergibt sich folgendes Bild (Abb. 10 *b*). Die schon äußerlich erkennbare Vorwölbung ist deutlich zu sehen, zugleich aber ist eine Einbeulung an der entsprechenden Stelle der Innenfläche bemerkbar, sowie an dieser Stelle eine deutliche Pigmentierung zu erkennen. Da nun Pigmentierung — wie schon *Rhumbler* betont — ein äußerlicher Indikator für herrschenden Druck erscheint, können wir hier mit Sicherheit das Vorhandensein einer Druckwirkung konstatieren, welche zuerst (Abb. 10 *a*) die Innenfläche etwas abschrägt und zugleich vielfach eine leichte Pigmentierung erkennen läßt, später deutlich die Fläche der Medullarplatte in der Mitte vorstößt und auf diese Weise die konvexe Vorwölbung verursacht. Es ist klar, daß dieser Druck lediglich von den vorwachsenden Mesodermsomiten ausgeübt sein kann. Wir erinnern uns, daß bei der natürlichen Entwicklung die Mesodermsomiten ebenfalls einen Druck ausüben, der

allerdings erst nach Schluß des Medullarrohrs in Aktion tritt und dessen vorher rundliche Kontur abschrägt. Hier ist es leicht erklärlich, daß der Mesodermsomitendruck früher zur Wirkung kommt, da ja gerade die Bildung des Neuralrohrs im Vergleich zur übrigen Ausbildung des Embryos im Experiment gehemmt wird. Daneben läßt sich, wie in Abb. 9, 10*c* besonders deutlich zu sehen ist, die schon vorher beobachtete Überwallung des Ektoderms, also eine vom Ektoderm ausgeübte *Zugwirkung* erkennen. Die Vorwölbung des Ektoderms, die dadurch verursacht wird, daß das vorwachsende Hornblatt die zähe Medullarplatte nicht mehr mit sich zu ziehen vermag, kann soweit gehen, daß schließlich eine regelrechte *Loslösung* des Ektoderms von den Medullarwülsten eintritt und die Ektodermwände sich viel

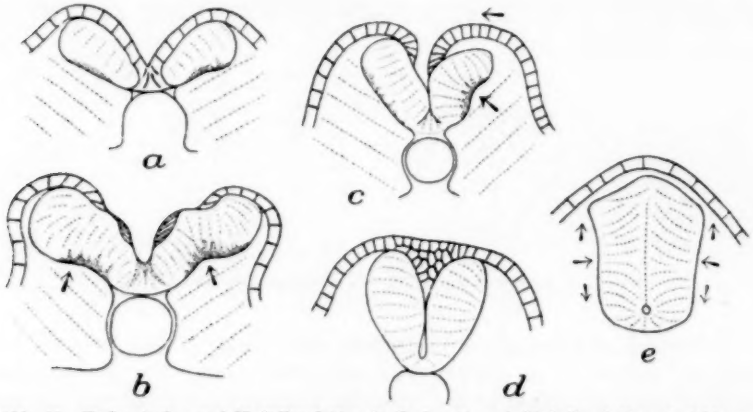


Abb. 10. Endgastrulae und Medullarplatten in Zucker 1/6 mol.-Medullarplattenentwicklung.

früher aneinander legen, bevor noch der Schluß des Neuralrohrs vollzogen ist (Abb. 10, *c*, *d*). Diese Präparate lassen also besonders deutlich den Anteil des Ektodermwachstums erkennen, während Abb. 10*c* die durch den Druck der Mesodermsomiten entstandenen Spannungsverhältnisse klar sichtbar macht.

Osmotische Wirkung der Zuckerlösungen sind in den seltensten Fällen bemerkbar. Sie führen dann meist zu einer Abflachung des Medullarrohrs und einer Verbreiterung der Wölbung durch den osmotischen Wasserentzug außerhalb und innerhalb des Medullarrohrs.

Es ist noch zu erwähnen, daß sich fast sämtliche Übergänge von reiner Wirkung des Ektodermwachstums bis zu alleiniger Entfaltung des Mesodermsomitenschiebedrucks erzielen lassen, wie dies ja auch infolge der verschiedenen Reaktion der Zellen, je nach ihrem Entwicklungsstadium — Früh-Endgastrula — natürlich erscheint.

Naacetat.

Anschließend an die Zucker- sollen die Naac-Versuche geschildert werden. Einwirkung von Naac $^1/_6$, $^1/_8$ mol. usw. in gleicher Weise wie bei Zucker, auf Spätmorulae, Frühgastrulae, Endgastrulae, Anfangsneurulae.

Wir haben bisher bei den Zuckerexperimenten als Hauptkräfte Ektodermzug und Mesodermschiebedruck kennen gelernt. Die gleichen Kräftewirkungen treten uns auch bei den Naac-Versuchen entgegen.

Dazu ließ sich bei den Naac-Embryonen noch eine weitere Erscheinung beobachten. Vielfach und zwar meist bei den im *Spätmorula*-Stadium der Naac-Lösung ausgesetzten Embryonen zeigten sich anfangs die gleichen Wirkungen wie im Zuckerversuch. Die Medullarfalten traten stärker hervor, die Platten wurden steif, brettartig und wie in einem Scharniergelenk aufeinanderzu bewegt. Dann machte sich

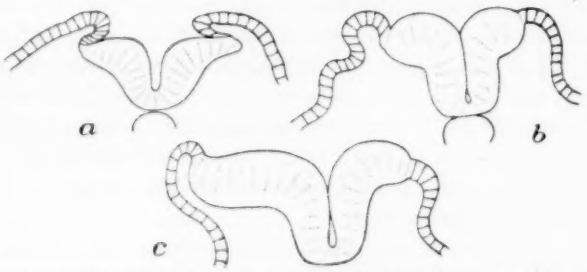


Abb. 11. Spätmorulae in Naac $^1/_6$, $^1/_8$ mol.-Medullarplattenentwicklung.

aber plötzlich die eigenartige Erscheinung geltend, daß die vorher schon mehr oder weniger genäherten Medullarplatten anfänglich eine konvexe Wölbung zeigten und dann plötzlich in der Weiterentwicklung wieder auseinanderwuchsen. Es erfolgte also ein Auseinanderklaffen der vorher schon stärker genäherten Medullarplattenteile. Im Schnittpräparat (Abb. 11) zeigte sich der Grund dieser Erscheinung. Die erste Ursache der Entstehung der konvexen Wölbung mag wohl auf Wirkung des Mesodermschiebedrucks zu setzen sein, eventuell könnte man vielleicht auch eine osmotische Beeinflussung annehmen, die in den Präparaten, welche im Endgastrula- oder Anfangsneurula-Stadium der Naac-Lösung ausgesetzt waren, deutlicher in Erscheinung trat, weshalb wir sie dort näher besprechen wollen. Das nachfolgende Auseinanderklaffen aber ist eine Folge der innerhalb der Medullarplatte einsetzenden Volumenvergrößerung und Vermehrung der Zellen, die ja bei der natürlichen Entwicklung ebenfalls einsetzt und hier beim Schluß der Medullarfalten mithilft, die nun aber in diesem Falle, da einmal die Spannungsverhältnisse durch den Druck der Mesoderm-

somiten sich verändert haben, die konvexe Wölbung verstärken und auf diese Weise die Ektodermpartien gewaltsam zurückdrücken. Dadurch wird also einmal ein Wiederöffnen der Neuralfalten, zum zweiten ein Zurückdrängen der Ektodermpartien bewirkt, das mitunter ganz groteske Formen annehmen kann (Abb. 11 *b, c*). Es macht dies m. E. wahrscheinlich, daß die während der Medullarfaltung einsetzende Zellvermehrung und Volumenvergrößerung *innerhalb* der Medullarplatte lediglich imstande ist, den einmal bestehenden Spannungsverhältnissen zu folgen und sie zu verstärken, wodurch im normalen Geschehen ein rascherer Schluß zustande kommt, während hier ein Auseinandertreten der beiden Hälften die Folge ist. Ich bin daher geneigt, dieser nachträglich einsetzenden Zellvermehrung und Volumenvergrößerung innerhalb der Medullarplatte die Rolle eines *Hilfsfaktors* zuzusprechen, der aber nicht imstande ist, selbsttätig einen Verschluß der Neuralhälften zu gewährleisten.

In manchen Fällen findet nun trotzdem äußerlich ein Schluß der Rückenfalte statt. Es zeigt sich dann aber, daß die Medullarplatte unterhalb der geschlossenen Ektodermschicht noch offen ist, und dieser Schluß lediglich durch Überwallung und Aufeinanderzuwachsen des Ektoderms erfolgt ist. Immerhin ist zuzugeben, daß in diesem Falle der Schluß auf das normale Geschehen nicht vollkommen zwingend ist, da bei diesen etwas pathologischen Verhältnissen eventuell andere Bedingungen maßgebend sind.

Bei der Einwirkung von Naac auf *Frühgastrulae* zeigen sich andere Erscheinungen. Hier tritt die eben erwähnte Volumenvergrößerung innerhalb der Medullarplatte ganz zurück, die Medullarplatte erscheint zäher, der Zusammenschluß der beiden Falten gehemmt. Gleichzeitig kann man an der Abschrägung der Innenkontur die Mitwirkung des Mesodermsomitendrucks erkennen, die ja dann besonders deutlich in Erscheinung tritt, je stärker der Schluß und die Bildung des Rückenmarks im Vergleich zur übrigen Embryonalentwicklung hinausgezögert wird. Wir können also hier vor allem die Wirkung des Mesodermschiebedrucks erkennen, die sich in vielen Fällen an der Ausbiegung der uns schon bekannten Wölbung und der Pigmentierung erkennen läßt. Daneben ist in einigen Fällen eine Wirkung *osmotischer* Kräfte nicht zu übersehen. Sie ist leicht zu erkennen in den Fällen, in denen die Medullarfalten gewissermaßen breitgedrückt auf der Chorda aufsitzen, sie läßt sich aber auch vielfach dann vermuten, wenn die eben ausgebildete Medullarplatte flach auf dem Embryo aufliegt und eine schwach konvexe Wölbung erkennen läßt, ohne daß ein Vorwachsen des Mesoderms in Erscheinung tritt. Hier darf man wohl die erste Ausbildung der konvexen Wölbung durch osmotischen Wasserentzug und dadurch bedingtes Zurücksinken der Medullarplatte er-

klären. Diese Erklärung versagt aber natürlich in den Fällen, in denen deutlich ein aktives Vorwölben durch das Mesoderm und vor allem ein Aufeinanderzubewegen der Medullarplattenhälften zu beobachten ist, da der osmotische Wasserentzug lediglich die Ursache zur Entstehung der konvexen Wölbung liefern, niemals aber eine erkennbare Förderung des Zusammenschlusses der Medullarfalten bewirken kann. Osmotische Kräfte können also nur hemmend, nicht aber den Zusammenschluß befördernd wirken. Zugleich läßt sich erkennen, daß im allgemeinen osmotische Wirkungen nur bei relativ starken Konzentrationen, also z. B. Naac $^1/_6$ mol., viel weniger bei Zucker, da dessen osmotischer Druck infolge seiner Eigenschaft als Nichtelektrolyt viel geringer ist, und vor allem nur bei solchen Embryonen zu erkennen sind, die erst im relativ späten Stadium Endgastrula, beginnende Medullarplatte, den Lösungen ausgesetzt wurden; da bei den übrigen infolge allmählicher Anpassung die Wirkung osmotischer Kräfte nicht sichtbar in Erscheinung tritt. Der osmotische Faktor ist also hier natürlich zu erwähnen, kann aber lediglich als Hemmungsfaktor dienen und verursacht in keinem Falle eine Förderung des Medullarfaltenschlusses.

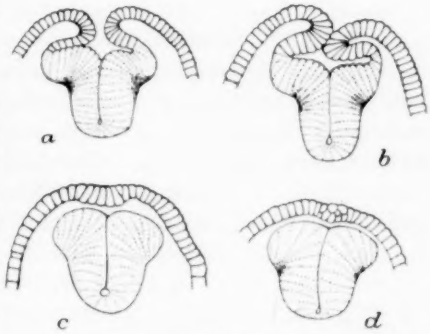


Abb. 12. Einwirkung von Naac $^1/_6$, $^1/_8$ mol. auf Endgastrulae, Medullarplattenentwicklung.

Wir sagten, daß im Frühgastrulastadium eingesetzte Embryonen vor allem die Wirkung des Mesodermsomitendrucks erkennen lassen, die in vielen Fällen bis zur deutlichen Ausbildung der konvexen Vorwölbung der Medullarplatte führte. Nun ist freilich klar, daß bei regelrechter Vorwölbung der Medullarplatte in der Mitte Mesodermschiebedruck allein einen völligen Schluß der beiden Falten kaum bewirken könnte, da ja bei Zusammenstoß der konvexen Bögen zwar ein Zusammenwachsen der Medullarhälften erfolgt, diese aber oben ihrer Ektodermumhüllung entbehren.

Einwirkung einer Naac-Lösung auf *Endgastrulae*. In vielen Fällen läßt sich in sehr charakteristischer Weise ein derartiges Aneinanderpressen der beiden konvexen Bögen beobachten (Abb. 12 *a*), wobei also ein regelrechter Schluß der Medullarplatten trotz Aneinanderliegens vorläufig nicht erzielt wird, da die Außenenden nach außen divergieren. Hierbei tritt aber vorzüglich deutlich die Tatsache des Ektodermzuges in Augenschein, da hier gewöhnlich eine sehr starke

Überwallung und Vorwölbung (Abb. 12 *a*, *b*) des Ektoderms über die zurückgebogene Medullarplatte erfolgt, da es die zähe Neuralplatte nicht mitzuziehen vermag und daher vorwachsen muß, um schließlich mit dem Ektoderm der anderen Seite in der Mitte zu verschmelzen, während darunter das Medullarrohr noch weit offen auseinanderklafft (Abb. 12 *c*, *d*). In manchen Fällen bleibt somit das Medullarrohr nicht regelrecht geschlossen; in anderen werden aber durch das vorwachsende Ektoderm Teile der Medullarfalten mitgerissen (was nachher besonders deutlich bei *Triton* zu erkennen sein wird) und auf diese Weise ein notdürftiger Abschluß des Medullarrohrs erzielt. Wir haben also in diesen Präparaten sehr deutlich die Anteilnahme des Mesodermsomitendrucks sowie des Ektodermzuges zu beobachten.

Nun ist aber in dem Falle, in dem die Medullarhälften aneinandergepreßt mit ihren Enden auseinanderklaffen, wobei also kein regelrechter Schluß des Neuralrohrs erfolgt ist, nicht gesagt, daß dieser Schluß nicht doch noch nachträglich zustande kommen könnte. So läßt sich in einigen Fällen beobachten, daß nachträglich durch Aufeinanderzuwachsen und -wandern der oberen Medullarplattenzellen doch noch ein Schluß zu Wege kommt, und das gibt natürlich zu denken; denn mit der Möglichkeit, des aktiven Schlusses der Medullarfalten durch Zellen aus den Medullarwülsten selbst wäre eine gewisse aktive Beteiligung der Zellen des Medullarrohrs auch im normalen Zustand der Entwicklung in den Bereich der Möglichkeit gerückt.

Anfangsneurulae. Bei den Embryonen, die im Neurulastadium in die Naac-Lösung gesetzt wurden, ließ sich vielfach eine gewisse osmotische Wirkung beobachten, viel häufiger jedenfalls als in den vorhergehenden Versuchen. Es hängt dies wohl damit zusammen, daß der osmotische Wasserentzug hier gerade zu der Zeit wirksam ist, in der die Medullarentwicklung vor sich geht, während in den anderen Reihen ein eventueller Wasserentzug vorhergehende Entwicklungsstadien traf und zu Beginn der Neuralrohrbildung eine gewisse Anpassung an die osmotischen Verhältnisse stattgefunden hatte. Dieser Wasserentzug hatte meist die schon bisher besprochenen Folgen gezeitigt, nämlich ein gewisses Zurücksinken der Medullarplatten, Ausprägung einer schwachen konvexen Wölbung, weitere Öffnung der Medullarfaltenrinne u. dgl. mehr.

Ein Schluß der Medullarfalten wurde aber auch in dieser Reihe erzielt, indem hier wieder Ektodermwachstum und Mesodermsomitendruck wirksam waren, von denen der zweite ja dann vorzüglich in die Erscheinung tritt, wenn Hemmungswirkungen in der Neuralrohrbildung auftreten und dadurch eine gewisse Verzögerung in der Entwicklung des Zentralnervensystems im Vergleich zur übrigen Entwicklung die Folge ist. Auch hier war teilweise die nachträgliche Überwallung

der auseinanderklaffenden Medullarhälften durch das Ektoderm, sowie das Mitreißen gewisser Partien der Medullarplatte als Dach des Neuralrohrs deutlich (Abb. 13).

Interessante Bilder ergaben sich mitunter bei Behandlung der Embryonen, bzw. Eier mit $CaCl_2$, Naac, NaCl-Lösungen, vorzugsweise stärkerer Konzentrationen ($^1/_6$ mol.), sowie konzentrierten Zuckerlösungen. In solchen Fällen wird nämlich durch Entquellung oder Wasserentzug oder ähnliche Einwirkungen die Verschiebbarkeit und Wanderung der Zellen beeinträchtigt. Damit wird aber die Entwicklung der Medullarplatte gestört, da die *Dorsalwanderung* der Grundschichtzellen von der Seite mehr weniger *unterbunden* erscheint. Die zukünftige Medullarplatte bleibt daher aus den Zellen zusammengesetzt, die von Anfang an dorsal gelegen waren, also den zwei Zelllagen der Deck- und Grundschicht, ohne daß sich eine typische Medullarplatte mit seitlichen Anschwellungen entwickelte. Hand in Hand geht natürlich die Tatsache, daß bei diesen Embryonen die Dicke des übrigen Ektoderms infolge mangelnden Abwanderns der Grundschicht im Verhältnis zur normalen Entwicklung gesteigert ist (Abb. 14 *c*, *d*). Trotzdem nun die Medullarplatte durchaus atypisch entwickelt, eigentlich kaum noch als solche zu bezeichnen ist, erfolgt dennoch eine Faltung der dorsalen Partie und regelrechte Abschnürung des „Neuralrohres", welches in diesem Falle als ganz dünne, einschichtige Röhre erscheint, bei der eine aktive Mitwirkung, sei es durch Volumenvergrößerung oder Zellvermehrung innerhalb der Medullarplatte völlig ausgeschlossen ist, und bei der auch eine aktive Zellwanderung als recht unwahrscheinlich anmutet (Abbild. 14 *a*, *b*). In diesem Falle ist also auch nur durch seitlichen Ektodermzug ohne Mitwirkung der Medullarplattenzellen ein Verschluß des Neuralrohres erreicht worden. Die gleichen Bilder hat *O. Hertwig* 1895 erhalten, begreiflicherweise, da er systematisch die Wirkung stärkerer Kochsalzkonzentrationen auf die Entwicklung des Froscheies studierte. *O. Hertwig* hat indes diese Befunde nicht in der hier ausgeführten Richtung verwendet.

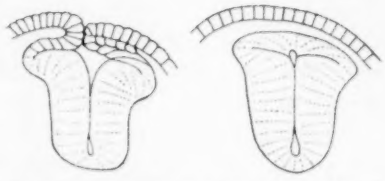


Abb. 13. Einwirkung von Naac $^1/_6$, $^1/_8$ mol. auf Anfangsneurulae, Medullarplattenentwicklung.

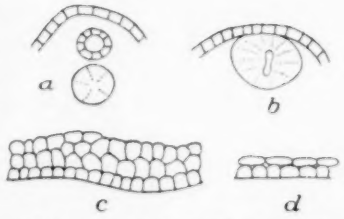


Abb. 14. *a* und *b* Neuralrohr, *c* ventrales Ektoderm nach Einwirkung konzentrierter Zuckerlösung, *d* normal ventrales Ektoderm im gleichen Entwicklungsstadium. In *a* ist die Chorda mitgezeichnet.

In umgekehrter Richtung als die bisher angestellten Versuche, bei denen durch Zusatz entquellender Mittel die Entwicklungsvorgänge gehemmt, sowie die Elastizität und Verschiebbarkeit der Medullarplatte herabgedrückt erschien, verliefen Versuche mit destilliertem Wasser. Bei Einwirkung destillierten Wassers ist eine deutliche *Beschleunigung* der Entwicklungsvorgänge festzustellen, so daß Eier, die in destilliertem H_2O sich entwickeln, einen gewissen Entwicklungsvorsprung vor normalen Eiern besitzen. Diese Entwicklungsbeschleunigung setzt nicht vor Ausbildung des Urmunds ein, d. h. die Furchungsperiode verläuft noch durchaus normal. Dagegen ist der Zeitraum der Gastrulation, sowie der der Neurulation deutlich abgekürzt. Ich persönlich möchte dies dadurch erklären, daß die Zellverschiebung, sowohl die zentrifugale bei der Gastrulation, wie die dorsale der Grundschichtzellen bei der Neurulation, durch Erhöhung des Quellungszustandes erleichtert ist, und daß die Elastizität der Medullarplatte durch Einwirkung von destilliertem H_2O anscheinend gesteigert wird, da die Medullarplatte weicher und nachgiebiger erscheint und infolgedessen den Druck- und Zugwirkungen weniger Widerstand entgegensetzt, bzw. sich diesen Kräften rascher anzupassen vermag. Damit stimmt überein, daß das Neuralrohr von Embryonen, die in destilliertem Wasser aufgewachsen waren, im Verhältnis zum Normalen mitunter etwas aufgequollen und verdickt erschien. Jedenfalls erscheint diese Erklärung als naheliegend gegeben und würde sich zudem dem ganzen Bilde der Beschleunigung der Faltung durch Weicherwerden, der Hemmung durch Zäherwerden der Medullarplatte sehr gut einpassen. Ich glaube daher, diese Befunde ebenfalls als Beweis der Art der Chemikalieneinwirkung verwerten zu können.

Zusammenfassung Rana.

Wenn wir uns die in Erscheinung getretenen *Kräftewirkungen* zusammenfassend vergegenwärtigen, so hätten wir

1. den *Zug des Ektoderms*, das aufeinander zu wächst. Er trat besonders deutlich hervor in den Zuckerversuchen, die mit Spätmorula- und Gastrulastadien angesetzt waren. Wir haben hier brettartig glatte Außenfläche, keine Wölbung, ausgerundete Innenfläche, kurz Beibehaltung der ursprünglichen Keilform und Drehung der Medullarplattenhälften als Ganzes um ein Scharniergelenk, das in der Mitte über der Chorda zu denken wäre. Es ist klar, besonders im Hinblick auf die Verhältnisse und Experimente von *His* an Gelatine- und Pappmodellen, daß diese Drehung der Medullarplattenhälften im ganzen ohne Umordnung ihrer Zellen im Inneren nur durch eine von außen her wirkende Kraft verursacht worden sein kann, und zwar kommt hier allein der Ektodermwachstumsdruck oder -zug in Frage.

Ektodermzug ist auch allein wirksam in den Fällen, in denen infolge Hemmung der Dorsalwanderung der Grundschichtzellen die Medullarplatte nur aus den schon ursprünglich dorsal gelegenen Zellen gebildet wird, und so durch Faltung nur ein dünnes, reduziertes Rohr entsteht.

2. *Mesodermsomitendruck.* Er erscheint deutlich in Präparaten, die erst im Endgastrula- und Frühneurulastadium den experimentellen Bedingungen ausgesetzt waren; erkennbar in seinen Wirkungen: Abschrägung, Vorwölbung, Pigmentierung.

3. Die *Volumenvergrößerung* der Medullarplatte durch Zellvermehrung oder Wasserabsorption. Diese führt in dem Falle, in dem durch Mesodermsomitendruck oder andere Kräfte einmal anormale Spannungsverhältnisse vorhanden sind, lediglich zur Weiterbildung der durch diese Spannungsverhältnisse resultierenden Form, in diesem Falle also zum nachträglichen Auseinanderweichen der vorher schon genäherten Medullarplattenhälften. Dies zeigt demnach, daß die Volumenvergrößerung rein mechanisch den einmal gegebenen Spannungen gerecht wird, keinesfalls aber als Hauptfaktor aktiv selbständig den Schluß des Medullarrohres bewirken könnte, wenigstens soweit die experimentellen Ergebnisse einen Rückschluß aufs Normale erlauben.

4. Eine gewisse Möglichkeit *aktiven Schlusses* des Medullarrohres durch die Zellen, die seitlich am jeweiligen Ende der Medullarplatte gelegen sind.

Ich glaube aus meinen Präparaten den Schluß ziehen zu können, daß in den angegebenen abnormen Verhältnissen diese Kräfte doch noch zu einem Schluß des Medullarrohres führten. Damit ist ein Einwand bereits angedeutet.

Man kann selbstverständlich sagen, in diesen experimentell abgeänderten Bedingungen, die den natürlichen zuwider laufen, sind zwar tatsächlich die angegebenen Kräfte wirksam, daraus kann aber noch kein Schluß gezogen werden auf die im normalen Entwicklungsgeschehen verwirklichten Vorgänge. Ich würde diesen Einwand für berechtigt halten, wenn ich nicht von der typisch-normalen Entwicklung bis zu den dargestellten extrem veränderten Verhältnissen fast lückenlose Übergänge erhalten hätte, indem auch in der normalen Entwicklung Bilder auftreten, welche einen Ektodermzug oder Mesodermsomitendruck deutlich genug erkennen lassen und von denen zu den im Experiment gewonnenen Bildern nur noch geringe oder gar keine Verschiedenheiten vorhanden waren, da ja die Wirkung der angewandten Lösungen selbst einen graduellen Übergang vom normalen zum abgeänderten Typus erkennen ließen.

Deutlich wurden solche Übergänge vor allen in Versuchslösungen geringerer Konzentration: Naac $^1/_8$, $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ usw., sowie Zucker-

lösungen $^1/_8$, $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ usw., ohne daß ich im einzelnen auf diese Experimente eingehen könnte, da sie wesentlich Neues nicht bieten. Sie besitzen nur den Wert, den Übergang vom normalen bis zum dargestellten Endtypus zu demonstrieren und lassen damit wohl den eben erwähnten Einwand als hinfällig erscheinen.

Zu Punkt 2, Mesodermsomitendruck, ist dann noch zu erwähnen, daß er auch in der völlig normalen Entwicklung auftritt, freilich erst nach Schluß des Medullarrohres, dieses dann abplattet und damit wohl auch die Längsstreckung des Embryos bewirkt. Es erscheint daher leicht verständlich, daß in allen den Fällen, in denen eine Hemmung der Neuralrohrbildung im Vergleich zu den übrigen Entwicklungsprozessen erzielt wird, dieser Mesodermsomitendruck frühzeitig in Erscheinung tritt und so zu einem Hilfsfaktor des Medullarrohrschlusses werden kann.

Zu 4, der Möglichkeit aktiven Schlusses des Medullarrohres durch Zellen, die den Medullarwülsten angehören, möchte ich noch folgendes bemerken: Innerhalb der Medullarplatte im normalen Verhalten zeigen sich die Spannungsverhältnisse (Abb. 5) in sehr deutlicher und prägnanter Weise ausgedrückt. An der Chorda liegt eine Zone geringeren Druckes; am stärksten ist der Druck rechts und links und am schwächsten an den beiden seitlichen Enden ausgebildet. Dort bewahren die Zellen mehr oder weniger deutlich ihren ursprünglichen Charakter, sind polygonal, die Kerne rund, während sonst die Zellen zusammengedrückt, die Kerne in Druckrichtung orientiert und verlängert erscheinen. Eben diese polygonalen Zellen sind es, welche den nachträglichen Schluß des Medullarrohres im Experiment zu vollbringen imstande sind, und für eben diese Zellen lassen sich auch in den natürlichen Verhältnissen Belege der gleichen Wirksamkeit finden. Wir müssen daher annehmen, daß die unverändert gebliebenen Zellen des Medullarrohres unter gegebenen Bedingungen die Fähigkeit besitzen, zu wandern und damit einen Verschluß des Medullarrohres herbeizuführen, während dies bei den mehr oder weniger abgeplatteten, zusammengedrückten Zellen als sehr unwahrscheinlich erscheint, und zudem — wie aus den angegebenen Experimenten und deren Übergängen zu den normalen Verhältnissen erhellt — in der Tat nicht nachweisbar ist.

Wir könnten zwar jetzt den normalen Verlauf der Vorgänge der Neurulation des Froscheies, soweit wir es haben analysieren können, im Zusammenhang darstellen. Ich möchte es aber vorziehen, zuerst noch auf die Verhältnisse bei *Triton* einzugehen, da bei diesem die Entwicklungsvorgänge doch etwas andere sind, um dann durch deren Vergleich einen deutlicheren Einblick in die dargestellten Prozesse geben zu können.

Triton, normal.

Auch bei *Triton* müssen wir zuerst von der Darstellung der natürlichen Entwicklung ausgehen. Ein prinzipieller Unterschied zum Froschei ist von vornherein darin gegeben, daß hier das Ektoderm der Endgastrula nicht in eine Deck- und Grundschicht zerfällt, sondern lediglich aus einer einfachen Lage prismatischer Zellen besteht. Im übrigen ist der Entwicklungsgang ein ähnlicher wie beim Frosch. Im Stadium der Endgastrula besteht das Ektoderm aus einer einfachen Lage ziemlich hoher, prismatischer Zellen, welche mit Beginn der Medullarplattenentwicklung eine ähnliche Zellverschiebung und Zellwanderung erkennen lassen, wie die Grundschichtzellen des Froscheies. Die Zellen seitlich und ventral wandern nach oben und pressen infolge des entstehenden Druckes die dorsalen Ektodermzellen zusammen. Dadurch wird natürlich das Ektoderm der Seite und ventral immer dünner, da die übrigbleibenden Ektodermzellen sich ausbreiten können und müssen, während dorsal durch die seitliche Zuwanderung die Mittelpartie zusammengequetscht und infolgedessen quer zum Druck ausgedehnt erscheint. Immerhin erfolgt hier keine Einwanderung von Zellen in die Mittelschicht der Medullarplatte wie beim Frosch, sondern diese dorsalen Zellen erscheinen nur quer zum Druck verbreitert und dadurch zweischichtig, daß die meisten in ihrer Keilform dem Druck angepaßt alternieren, auf diese Weise eine doppelte Zellage vortäuschend (Abb. 15 *b*). Damit ist aber ein Unterschied zum Froschei gegeben: nämlich die Medullarplatte entwickelt nicht in dieser Form wie beim Frosch zwei deutliche Anschwellungen, welche in der ausgebildeten Medullarplatte zur typischen Keilform führen, sondern es entsteht mehr ein Medullar*band*, da die Mitte über der Chorda nicht in dem Verhältnis wie beim Frosch zu den seitlichen Partien verdünnt erscheint. Zum zweiten verbreitert sich die entwickelte Medullarplatte nicht durch Einkeilen von Grundschichtzellen, sondern wird vielmehr immer mehr seitlich zusammengedrückt (Abb. 15 *a*, *b*, *c*); d. h. also, die sich anlegende Medullarplatte ist anfänglich viel *breiter*, umfaßt die ganze obere Hälfte des Eies, wird dann seitlich immer mehr und mehr zusammengepreßt, wobei die dorsalen Zellen um so länglicher erscheinen, also mehr den Druckverhältnissen gehorchen, die seitlichen Randzellen dünner, langgestreckter werden und sich immer deutlicher von der Medullarplatte abheben, während anfänglich die Unterschiede weniger zu sehen waren (Abb. 15*a*). Offenbar unterliegen also die Medullarplattenzellen bei Herausbildung der Medullarplatte einem durch die sich verschiebenden Ektodermzellen der Seiten und des Bauches seitlich ausgeübten Druck, der die Zellgestaltveränderungen dieser Medullarplattenzellen *passiv* bewirkt.

Da sich bei der Neurulation das Ektoderm des Eies weiterhin entsprechend verdünnt, liegt es nahe anzunehmen, daß die erst erwähnte Dorsalverschiebung der Ektodermzellen, welche zur Herausdifferenzierung der Medullarplatte geführt hat, weiterhin auch die Aufrollung dieser Platte bewirkt; denn es ist klar, daß in dem Moment, in dem die Medullarplatte infolge ihrer Elastizität nicht weiter zusammengedrückt werden kann, sie sich einfalten muß, sowie der seitliche Druck sich verstärkt. Wir hätten also in diesem Falle allein ein Fortdauern der Dorsalwanderung der Seitenzellen anzunehmen,

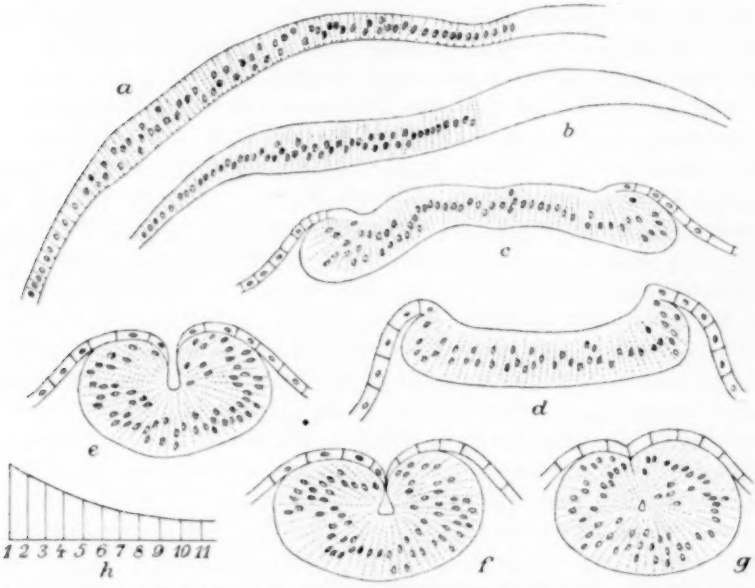


Abb. 15. *Triton*: Neurulation, normal *a—g*, *h* Höhe des ventralen Ektoderms, *1* Gastrula, *2* Endgastrula, *4* Medullarplattenbeginn, *9* Schluß des Neuralrohres, *11* geschlossenes Neuralrohr.

um eine Faltung der Medullarplatte verständlich machen zu können. An und für sich liegt in diesem Gedankengang natürlich kein Beweis, wir hätten nur schon jetzt eine gewisse Berechtigung dazu, angesichts der Ergebnisse, die wir beim Froschei gewonnen haben. Andererseits erinnern aber die Bilder der sich einfaltenden Medullarplatte des *Triton* viel mehr einem infolge einseitiger Volumenvermehrung sich einkrümmendem Bande als die Froschneurula. Wir werden daher bei *Triton* erst die gleichen Experimente anzustellen haben wie beim Frosch, ehe wir etwas Sicheres auszusagen imstande sind. Über die natürlichen Entwicklungsvorgänge wäre hier noch zu sagen, daß bei *Triton* Zellteilungsvorgänge im wesentlich stärkeren Maße bei Aus-

bildung der Medullarplatte und Auffaltung der Neuralwülste auftreten als beim Frosch. Wir könnten also auch hier eine gewisse Ausdehnung der sich bildenden Medullarplatte feststellen, welche ähnlich wie bei *Rana* die Ausbildung der Rückenrinne sowie die spätere Doppelwölbung und Abplattung der Rückenrinne im Oberflächenrelief des Eies erklären könnte. Doch ist es klar, daß die stete seitliche Komprimierung der Medullarplatte allein ebenfalls zur Erklärung der Entstehung der Rückenrinne sowie der Doppelwölbung ausreicht. Wir hätten ja hier ebenfalls eine seitlich komprimierte, in der Mitte fixierte, elastische Platte, die dem Druck in einer Auswölbung ihrer Hälften nach außen nachgeben muß, deren Elastizitätswiderstand aber in dem Maße ihrer weiteren Komprimierung wachsen muß, bis er schließlich dazu ausreicht, die Ektodermpartien aus der Eiwölbung herauszudrücken, womit eine Abflachung der Rückenfläche, sowie ein Heraustreten der Medullarplattenkontur gegeben ist. (Einzelheiten siehe Froschei.) Wieweit diese Einzelheiten mit der Entwicklung bei *Rana* übereinstimmen, möchte ich dahingestellt lassen.

Zucker.

Ein wesentlich anderes Bild als beim Frosch erhalten wir aber in den experimentell abgeänderten Verhältnissen. Wir hatten als eine typische Wirkung der Zuckerlösungen beim Froschei ein schärferes Hervortreten der Medullarfalten erwähnt, da diese unelastisch, brettartig, keinerlei Auswölbung nach innen erkennen ließen und so, stärker über die Oberfläche des Eies hinausragend, wie in einem Scharniergelenk aufeinander zu sich bewegten.

Anders bei *Triton*. Hier ist die normale Wirkung der Lösungen rein äußerlich ein *Verwischen* der Falten (21 Schnittserien). Die Medullarwülste treten wenig oder kaum über die Oberfläche des Eies heraus und schließen sich unter seitlichem Heranwachsen, ohne daß das normale Bild der Herauswölbung entstanden wäre. Klarer wird dies in Schnittpräparaten. Zuerst mögen auch hier die Zuckerversuche besprochen werden, obwohl bei *Triton* die Wirkungen der verschiedenen Lösungen einheitlicher waren als beim Frosch. Zudem muß noch bemerkt werden, daß die Lösungen erst in etwas stärkeren Konzentrationen deutlich zu wirken pflegten.

Zucker $^1/_8$. Wir erhalten hier teilweise noch Bilder, die ganz an normale Verhältnisse erinnern. Nur mitunter ist die Form des sich einfaltenden Medullarrohres etwas breiter, sozusagen zusammengesunken (Abb. 16*a*), ohne daß man dies als durchgängigen Gegensatz zur normalen Entwicklung ansprechen könnte, da man ähnliche Bilder auch im normalen Entwicklungsgang vorfindet. Eins dagegen tritt hier etwas deutlicher auf, was bei der Normalentwicklung seltener zu

sehen ist. Seitlich dort, wo normalerweise die Wölbung des Medullarrohres nach oben sich biegt, finden sich vielfach Pigmentstraßen als Anzeichen besonderen Druckes und zugleich ein gewisses Vorschieben der oberen Partien gegen die unteren. Es bildet sich sozusagen eine *Rutschfläche*, auf der die oberen Partien gegen die unteren verschoben werden. Klarer wird dies bei Zucker $^1/_6$ mol. (Abb. 16 *a*, *b*). Hier ist außer der Pigmentverteilung sehr deutlich das Vorschieben der oberen Partien zu erkennen. Klare Bilder ergeben auch Zuckerlösungen von $^1/_4$ mol. Konzentration, und zwar zeigen sich dabei alle möglichen Zellverschiebungen. Die eine Form erinnert an die vorher beschrie-

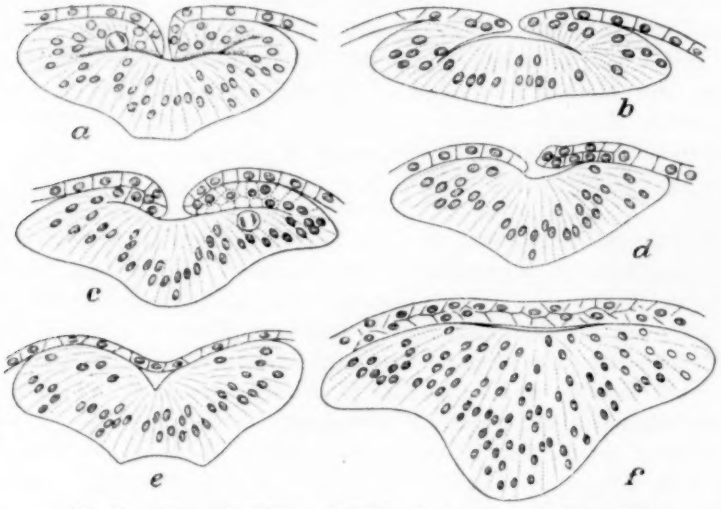


Abb. 16. *Triton*: Einwirkung von Zucker $^1/_6$, $^1/_4$ mol. auf Frühgastrulae.

benen und besteht in einem Vorwachsen des Ektoderms sowohl wie einer Partie der Medullarrohrzellen. Man kann hier deutlich erkennen, daß ein von beiden Seiten her eingreifender Druck oder Zug die Seitenpartien der Medullarplatte auf der durch die Pigmentierung erkennbaren Rutschfläche gegen die untere Partie vorgeschoben hat. So wird durch Zusammendrücken des oberen Teiles der Medullarwülste in späteren Stadien ein Schluß des Medullarrohres erzielt. Die Verhältnisse sind also von den natürlichen in der Weise modifiziert, daß nicht ein Biegen der elastischen Medullarplatte im ganzen erfolgt, sondern es erweist sich die Medullarplatte zu unelastisch, so daß der seitlich wirkende Druck nunmehr leichter die oberen Zellpartien gegen die unteren verschieben kann, als die Neuralplatte im ganzen zu krümmen und einzufalten. Dazu kommt allerdings noch als wesent-

liches Moment eine Änderung der Druckrichtung infolge osmotischen Wasserentzuges, worauf wir später noch eingehen werden. Von welchen Zellen diese Druckwirkungen ausgehen, ergibt sich aus den folgenden Präparaten (Abb. 16*c, d, e*). Es erweisen sich *immer weniger* Medullarplattenzellen mit vorgerissen, dagegen wölben sich nun spitze Zungen, die durch das vorstoßende Ektoderm gebildet werden, über die Medullaranlage vor und verwachsen schließlich median. Dies kann so weit gehen, daß über der noch völlig *offenen Medullaranlage* ein Schluß des vorstoßenden Ektoderms erfolgt, so daß äußerlich ein vollkommener Schluß der Haut gegeben ist, während darunter die Neuralanlage noch völlig offen daliegt, ohne daß von ihr Zellen von dem vorstoßenden Ektoderm mitgezogen worden wären. Kurz, es ergeben sich solche Bilder, wie sie bei *Amphioxus* in der natürlichen Entwicklung vorkommen, wo sich ja bekanntlich die Medullaranlage vom übrigen Ektoderm abspaltet und unter dem seitlichen vorwachsenden Hornblatt noch völlig offen daliegt (Abb. 16*e, f*).

Daraus ergibt sich natürlich die Deutung, daß der in diesen experimentell gewonnenen Bildern erkennbare Druck gewährleistet wird durch das vorstoßende Ektoderm, welches aufeinander zu wächst und deutlich eine Zugwirkung auf die darunter liegende Medullarplatte ausübt. Diese Zugwirkung macht sich zuerst in der Ausbildung der sogenannten Rutschfläche durch die Pigmentierung, sowie in einem Vorschieben der oberen Medullarpartien gegen die unteren geltend, da diese Verschiebung infolge der experimentell veränderten Verhältnisse leichter von statten geht, als eine Einfaltung der Medullaranlage als ganzes. Als weitere Stadien lassen sich die Bilder deuten, in denen immer weniger Zellen der Medullarplatte mitgerissen werden, bis schließlich reine Ektodermzungen über die Neuralanlage vorstoßen und miteinander verschmelzen; d. h. doch wohl, daß in letzterem Falle die Medullaranlage derart zähe und unelastisch geworden ist, daß sie dem einwirkenden Zug des vorstoßenden Ektoderms völlig Widerstand zu leisten imstande ist. Andererseits ist aber die Tendenz des Zusammenwachsens der Ektodermpartien so stark, daß die Ektodermzellen sich von der darunter liegenden Medullarplatte loszulösen vermögen und dann allein aufeinanderzuwachsen.

Naacetat.

Ähnliche Bilder wie im Zuckerversuch zeigen die Naac-Wirkungen. (Auch hier wurden Naac-Lösungen in den Konzentrationen $^1/_8$, $^1/_6$, $^1/_5$, $^1/_4$ mol. angewandt, 22 Schnittserien.) Die Natriumacetat $^1/_8$ mol. Lösungen zeigen dieselbe Wirkung wie Zucker $^1/_8$, d. h. Ausbildung der Rutschfläche, Vorstoß der oberen Medullarpartien, Ausbildung der Pigmentstraßen u. dgl. Naac $^1/_6$ steht in seiner Wirkung

etwa zwischen Zucker $^1/_6$ und Zucker $^1/_4$, zeigt ein deutliches Mitreißen der oberen Medullarpartien, sowie eine ziemlich starke Komprimierung der Medullaranlage von oben und infolgedessen eine wesentliche Verbreiterung nach den Seiten (Abb. 16 *b*, *c*), sowie eine deutliche Abschrägung der Außenpartien durch das angrenzende Mesoderm und die Chorda. Die gleichen Erscheinungen sind auch an den Zuckerpräparaten erkennbar, ohne daß wir bisher darauf eingegangen wären.

In späteren Stadien können sich bei Naac $^1/_6$ durch Verwachsen des Mesoderms ähnliche Bilder ergeben wie beim Frosch, indem die Außenpartie der Medullarplatte abgeschrägt und brettartig zusammengedrückt wird, also ein Schluß des Medullarrohres durch *Mesodermschiebedruck* erfolgen kann (Abb. 17). Auch hier kann man dann be-

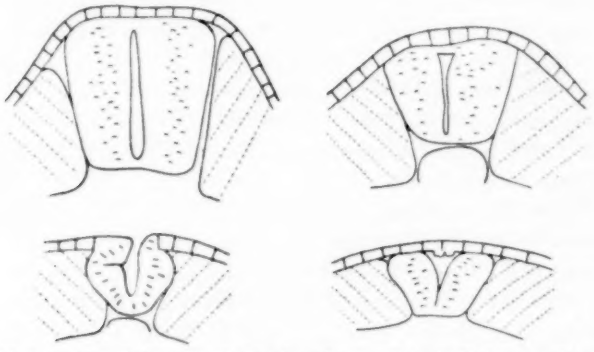


Abb. 17. Schluß des Neuralrohres durch Mesodermdruck. Naac $^1/_6$ Bilder aus einer Schnittserie.

obachten, daß, ähnlich wie beim Frosch, ein Schluß des Medullarrohres durch *aktives* Zusammenwandern von Medullarplattenzellen der oberen Enden, die unverändert geblieben sind, erfolgen kann. Die Wirkungen von Naac $^1/_5$ sind nicht besonders charakteristisch von Naac $^1/_6$ verschieden. Nur macht sich hier vielleicht noch mehr eine seitliche Verbreiterung der Medullaranlage geltend. Naac $^1/_4$ (sowie Zucker $^1/_2$) ist dagegen durch seine Wirkung deutlich unterscheidbar, denn hier zeigt sich eine scharfe Schrumpfung der Medullarplatte und des übrigen Eies. Die Wölbung der Medullaranlage wird stärker, die Zellen ziehen sich durch Wasserverlust zusammen. Die Naac-Lösung erweist sich als schädigend auf die Eier.

Wir haben bei den Naac-Versuchen zum Unterschied von *Rana* durchweg ein Verstreichen, *Niedrigerwerden*, der Medullarplatten konstatieren müssen. Zugleich damit geht vielfach eine Verbreiterung der Medullarplatte. Im Schnitt ist erkennbar, daß die Neuralanlage sich nicht mehr, wie im normalen Modus, nach oben wölbt, sondern

daß die Zellpartien innerhalb der Medullarplatte verschoben werden, dergestalt zeigend, daß ein Verschieben der zäh gewordenen Medullarplatte im ganzen weniger leicht vor sich geht, als ein Verschieben der Zellen innerhalb der Medullaranlage gegeneinander.

Damit ist aber ein charakteristischer Gegensatz zum Frosch gegeben. Bei diesem hatten wir ja im Zuckerversuch ein schärferes Hervortreten der Medullarfalten und ein scharnierartiges Umlegen der Medullarplattenhälften aufeinander zu. Ich glaube, daß zur Erklärung des verschiedenen Verhaltens folgendes ausreicht. Einmal hatten wir beim Frosch durch seitliche Aufbauchung der Medullarplatte infolge Einwanderung von Grundschichtzellen eine viel deutlichere Keilform der Neuralanlage (Abb. 18, *1*), die infolge ihrer zentralen Verdünnung sich relativ leicht um dieses Zentrum drehen kann; während bei *Triton* allein durch seitliches Zusammenschieben viel mehr die Form eines Bandes zustande kommt, welches in der Mitte nicht in dieser Weise verdünnt ist und demgemäß auch nicht so leicht um diese Mitte drehbar erscheint (Abbild. 18, *2*). Zum zweiten müssen wir uns den schon bei der Gastrulation besprochenen Unterschied vergegenwärtigen, daß nämlich die Volumenverhältnisse des Froscheies bei der Neurulation sich fast gleich bleiben, und daß durch seitliches Zusammendrücken Raum für eine Auswölbung der Medullarfalten frei wird, wogegen bei *Triton* eine sehr starke Volumenabnahme des Eies zu konstatieren ist. Durch diese Volumenabnahme wird aber bedingt, daß die Zugkräfte des vorstoßenden Ektoderms viel mehr seitlich und von unten gegen die Medullarplatte wirken und dieses weniger vorwölben können, da das Ektoderm in die Eioberfläche einsinkt, während ein Um-

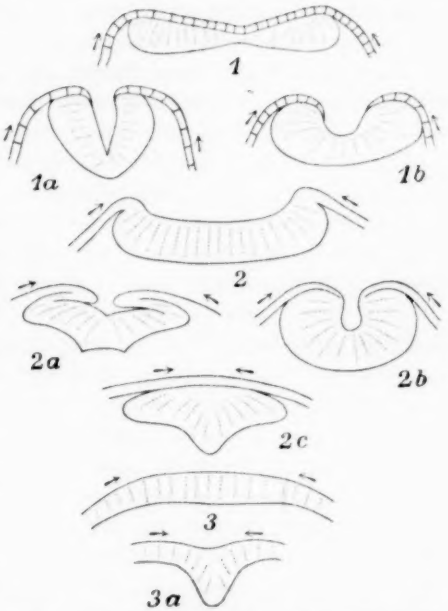


Abb. 18. *1* Frosch, keilförmige Medullarplatte; *1a* versteift, brettartiges Zusammenklappen nach Zuckerwirkung; *1b* normal, Kräftewirkung seitlich nach oben. *2 Triton*, Medullarband; *2a* Exosmose, Verstreichen der Falten, Verlagern der Kräfte, Kräftewirkung mehr von der Seite; *2b* normal; *2c* offene Medullarplatte unter dem Ektoderm, erinnert an Bilder der Neuralfaltung der Teleostier; *3* und *3a*, hier Zusammenschieben, keine Auffaltung, Kräftewirkung seitlich.

klappen nach außen beim Frosch leichter ermöglicht ist. Zum dritten ist noch zu bemerken, daß bei *Triton* in den experimentellen Verhältnissen *osmotische* Einwirkungen in viel stärkerer Weise wirksam sind, wie dies hauptsächlich an dem exosmotischen Wasserentzug und der dadurch bewirkten Volumenverkleinerung des ganzen Eies zu erkennen ist. Dies erklärt sich zum Teil dadurch, daß in den Experimenten stärkere Konzentrationen der Versuchslösungen angewandt wurden. Erkennbar wurden diese osmotischen Wirkungen z. B. an der Kompression der Medullaranlage von oben und einer Verbreiterung nach der Seite, wobei ersichtlich war, daß dabei eine gewisse *Tieferlegung* der Medullaranlage erfolgt war, wodurch die Kräftewirkung des vorwachsenden Ektoderms aber ebenfalls wieder mehr nach der *Seite* und unten verlagert wurde (Abb. 18, *2a*). Damit ist aber dann verständlich gemacht, daß hier durch seitliches Zusammenschieben im Gegensatz zum Frosch ein Verstreichen, *Niedrigerwerden*, der Faltung die Folge sein muß, während die prinzipielle Tatsache des Zusammenstoßens bzw. Zusammenwachsens des Ektoderms von den Seiten her in beiden Fällen die gleiche ist (Abb. 18).

Wir hätten also in beiden Fällen als wichtigsten Faktor den Vorstoß des Ektoderms, welcher zum Schluß des Medullarrohres führt.

Eine andere osmotische Wirkung ließ sich bei Naac $^1/_4$ mol. erkennen; dies liegt aber wohl daran, daß hierbei auch die Zellen der Medullarplatte selber dem osmotischen Wasserentzug unterlagen, während bei den geringeren Konzentrationen ein Wasserentzug allein aus der Gastralhöhlenflüssigkeit erfolgte.

Es ist nun, ähnlich wie bei *Rana*, zu verlangen, daß man Übergänge vom natürlichen zu dem experimentell abgeänderten Verhalten nachzuweisen imstande ist, bevor man gültige Schlüsse für das normale Geschehen zu ziehen sucht. Es zeigt sich nun, daß man, durch die experimentellen Befunde aufmerksam gemacht, diese Übergänge in reichlichem Maße zu finden vermag. Ebenso wie die dorsale Komprimierung und seitliche Ausdehnung der Medullarplatte (Abb. 16*a*, *b*) sich mitunter sehen läßt, wird oft die Ausbildung der sogenannten Rutschfläche in Gestalt von Pigmentstraßen, sowie ein Vorstoß der oberen Medullarpartien deutlich genug erkennbar (Abb. 16*a*, *b*, *c*). Ja diese Verschiebung ist in manchen Fällen recht prägnant ausgebildet worden. Ich glaube daher nicht nur für die experimentell veränderten Bedingungen, sondern auch für das normale Verhalten den Nachweis des Ektodermzuges erbracht zu haben.

Dazu ist noch zu erwähnen, daß ein Überschieben der Seitenteile nach der Mitte zu auch mitunter schon am *lebenden* Ei im Oberflächenrelief zu sehen ist. Ein solches Vorschieben der Außenpartien über die noch nach außen gewölbte Medullarplatte ist sogar vielfach

recht deutlich; es ist daraus aber nicht zu sehen, in welchen Zellen die Ursache der Verschiebung zu sehen ist, da solche Bilder auch durch aktives Wandern der äußeren Medullarplattenzellen sich ergeben würden. Doch beweisen diese Bilder hinlänglich deutlich, daß von einer Faltung der Medullarplatte durch einseitige Volumenvergrößerung nicht wohl die Rede sein kann, da ja hier die Oberfläche der inneren Medullarplattenpartien noch nach außen gekrümmt erscheint, ein Überschieben und keine Faltung also hier stattfindet.

Auch die seitliche Kompression der sich bildenden Medullarplatte ist teilweise schon äußerlich zu erkennen. Lange bevor eine deutliche Vorwölbung der Medullarfalten sich zeigt, wird schon durch Pigmentierung die Form der zukünftigen Medullarplatte erkennbar, die aber anfangs wesentlich breiter angelegt wird und sich dann zusammenzieht, bis die Größe der endgültigen Medullarplatte erreicht ist und dann die Aufwölbung der Falten beginnt (Abb. 15).

Zusammenfassung Triton.

Wir hätten also bei *Triton* wie beim Frosch die folgenden Kräfte anzunehmen:

1. *Ektodermwachstum*, welches nur mehr seitlich auf die Medullarplatte einwirkt und diese infolge ihrer bandartigen Form weniger leicht im zähen Zustand nach außen zu falten vermag, um so weniger, da im Experiment die Druckrichtung noch mehr nach seitlich und unten verschoben erscheint, während dies im natürlichen Modus gelingt. Die Verlagerung der Druckrichtung im Experiment hat die Folge, daß hier eine Verschiebung der oberen Medullarplattenpartie gegen die untere bzw. ein Loslösen des Ektoderms von der Medullarplatte zustande kommt.

2. Eine gewisse *Volumenzunahme* der Medullarplatte, welche der Faltung zugute kommt und welche durch starke Zellvermehrung bedingt ist. Die Mitosen sind bei *Triton* viel deutlicher und zahlreicher als beim Frosch.

3. Ein Vermögen *aktiven Wanderns* seitlicher Medullarplattenzellen — die embryonal bzw. polygonal bleiben, das heißt keinerlei Druckwirkung erkennen lassen —, das in manchen Fällen nachweisbar wird.

4. Ein Druck durch die vorwachsenden *Mesodermsomiten*, der freilich im normalen Verhalten, ebenso wie beim Frosch, erst nach Schluß des Medullarrohres sich geltend macht, der aber im Experiment, wo der Schluß des Neuralrohres im Vergleich zum übrigen embryonalen Entwicklungsgeschehen verzögert ist, mitunter in Erscheinung treten kann.

Zusammenfassung.

Die wichtigsten Vorgänge, welche zur Neurulation führen, wären demnach beim *Frosch:* Zuerst die *Dorsalwanderung* der *Grundschicht* des Ektoderms, welche die Ausbildung der dorsalen Anschwellungen bewirkt. Diese ziehen sich *enger* zusammen, treten mit der darüber liegenden Deckschicht in festeren *Zusammenhang* und führen so zur Ausprägung der Medullarplatte. Dann erfolgt eine *Dorsalwanderung* der *Deckschicht* des Ektoderms seitlich und ventral, welche die Medullarplatte zusammenpreßt und auffaltet. Die Medullarplatte folgt diesem Druck um so leichter, da sie, *elastisch* und anpassungsfähig, äußerem Druck rasch nachgeben kann und infolge ihrer *Keilform* sich leicht um ihren Fixpunkt wie in einem Gelenk zu drehen vermag. Als Hilfsfaktor kommt eine einsetzende *Volumenvermehrung* der Medullarplatte in Betracht, welche die einmal beginnende Faltung zu beschleunigen imstande ist. Eventuell kann auch noch *Mesodermschiebedruck* die Faltung unterstützen, dennoch wird dies nur ausnahmsweise der Fall sein, da er normalerweise erst in Wirksamkeit tritt, wenn der Neuralfaltenschluß schon vollzogen ist. Er führt dann zu einer Abschrägung des vorher runden Neuralrohres und damit wohl auch zu einer *Streckung* des Embryos.

Veränderungen im Experiment: Unterdrückung der Dorsalwanderung der Grundschicht führt zu einer Verkümmerung des Neuralrohres, das sich zwar einfaltet, aber nunmehr allein aus den dorsal gelegenen Zellen besteht.

Versteifung der Medullarplatte ergibt scharfe, keilförmige Falten, die klappenartig, passiv wie um ein Scharniergelenk durch die seitlich einwirkenden Kräfte des Ektodermzuges aufeinanderzu bewegt werden. Verzögerung der Differenzierung des Neuralrohres im Verhältnis zur übrigen Embryonalentwicklung bedingt die Mitwirkung des *Mesodermsomitendruckes*, welcher das Medullarrohr vor sich her drückt und einen Zusammenschluß bewirken kann. Dieser Verschluß kann unterstützt oder in anderen Fällen überhaupt erst bewirkt werden durch *aktives Wandern* der obersten Medullarplattenzellen, welche ihre embryonale Form stets beibehalten. Der Mesodermsomitendruck bedingt mitunter ein Vorwölben der Medullarplattenhälften in der Mitte. In diesem Falle kann die eintretende *Volumenvergrößerung* der Medullarplatte, die normalerweise die Faltung beschleunigt, ein Auseinanderklaffen der Medullarwülste zur Folge haben. Im Experiment wird vor allem die Wirkung der *Ektodermwanderung* deutlich, da hier vielfach eine merkliche Vorwölbung des Ektoderms über die Medullarplatte, welche dem Zuge nicht zu folgen vermag, sichtbar wird. Unterdrückung der Gleitbarkeit der Zellen führt zu Hemmung, Erhöhung

— Einwirkung von destilliertem Wasser — zu Beschleunigung der Faltung.

Triton: Da das Ektoderm nicht in Grund- und Deckschicht zerfällt, läßt sich hier lediglich eine *Dorsalwanderung des Ektoderms* von den Seiten und von unten wahrnehmen, welche die dorsal gelegenen Partien zusammenschiebt. Dadurch bildet sich ein Unterschied der dorsalen Zellen zu den seitlichen und ventralen aus. Die seitlich heraufwandernden Zellen nehmen langgestreckte, auseinandergezogene Formen an, während die dorsalen, zusammengepreßt, höher werden und sich dadurch immer schärfer von den anderen abheben. Die erste Anlage des Medullarbandes erscheint sehr breit. Die dorsalen Partien werden dann weiter zusammengepreßt und dadurch höher, bis schließlich die fertige Medullarplatte sich ausbildet, da nunmehr eine weitere Zusammenpressung von der Seite nicht mehr möglich ist und der weiterhin wirksame Druck zur Emporwölbung der Medullarplattenhälften über die Eioberfläche und dadurch zur Entstehung der Rückenrinne führt. Weiterer Seitendruck bedingt ein Ausweichen und Überschieben nach außen und so die Einfaltung der Medullarplatte, die bis zum Schluß des Neuralrohres durch den *Ektodermzug* durchgeführt wird. Als Hilfsfaktor kommt eine *Volumenvergrößerung* der Medullarplatte durch Zellvermehrung in Frage. Auch kann *Mesodermdruck* und *aktive Zellverschiebung* der oberen Medullarplattenzellen, die, wie beim Frosch, ziemlich ungestört bleiben, mitunter beobachtet werden.

Veränderungen im Experiment: Anwendung von Zuckerlösungen ergibt im Gegensatz zu *Rana* ein *Verstreichen*, Niedrigerwerden, der Falten. Die Medullarplatte wird nicht mehr als Ganzes umgefaltet, sondern die oberen Partien werden gegen die unteren infolge Ektodermzuges vorgeschoben. Bei starker Versteifung der Medullaranlage kann die Zähigkeit der Medullarplatte so weit gehen, daß die vorstoßenden Ektodermzungen immer weniger Medullarplattenzellen mit sich zu reißen vermögen und schließlich allein aufeinanderzuwachsen und miteinander verschmelzen, unter sich die weit offene Medullaranlage zurücklassend. Dieser Unterschied der experimentellen Ergebnisse im Vergleich zum Froschei erklärt sich aus zweierlei Gründen. Einmal ist die Medullarplatte bei *Triton* nicht in so auffallender Weise in der Mitte verdünnt und daher nicht so leicht um ihren Fixpunkt drehbar. Dann aber zeigt sich schon im Normalen, daß die Kräftewirkung, die vom vorstoßenden Ektoderm ausgeübt wird, infolge Volumenverminderung durch Wasserentzug viel mehr von der Seite angreift und infolgedessen weit eher als beim Frosch ein Zusammenschieben an Stelle einer Auffaltung bewirken kann. Diese seitliche Verlagerung der Zugkräfte wird aber im Experiment noch stark ge-

fördert, da durch osmotischen Wasserentzug, der hier leichter auftritt als beim Frosch, da er nur die Verstärkung eines normalen Vorganges zu sein scheint (siehe Volumenverminderung des *Triton*-Eies, Beitrag I), die Medullaranlage tiefer in die Eioberfläche einsinkt. Die Folge aber davon muß sein, daß jetzt vielfach die Medullarplatte zusammengeschoben wird und nicht mehr in der normalen Weise aufgefaltet werden kann. Man erhält so Bilder, die stark an diejenigen bei *Amphioxus*, vielfach aber auch an die bei Teleostiern erinnern, wo ja bekanntlich ein Zusammenschieben der Medullaranlage ohne Auffaltung oder doch nur mit Spuren einer Auffaltung durchgeführt wird (Abb. 18, *3*). Es dürfte interessant sein, die Vorgänge der Neurulation bei Teleostiern usw. von diesem Gesichtspunkt aus zu prüfen, Vorgänge, die ich zur Zeit zu untersuchen beschäftigt bin.

Wir sehen damit, daß im *wesentlichen* die Kräftewirkungen bei *Rana* und *Triton*, welche zur Neurulation führen, dieselben sind. Und zwar sind es: *Ektodermzug*, Volumenzunahme der Medullarplatte, aktives Wandern der Medullarplattenzellen, Mesodermdruck, die hier in Frage kommen. Als Haupt- und eigentlicher Faktor davon ist aber der Ektodermdruck anzusprechen, der von den übrigen, gewissermaßen als Hilfsfaktoren zu betrachtenden Kräften mehr oder weniger unterstützt wird. Wir kommen damit aber wieder zu dem Schlusse, die Medullarfaltung als einen hauptsächlich durch Faktoren, die *außerhalb* der eigentlichen Medullarplatte liegen, bewirkten Vorgang anzusehen.

Wir haben uns bisher bemüht, auf dem Boden der beobachteten Tatsachen zu bleiben. Es ist aber verlockend, über die bloße Konstatierung des vom Ektoderm ausgeübten Zuges heraus, nach der *Ursache* dieser Kräftewirkungen zu fragen, also in unserer Analyse einen Schritt weiter zu gehen. Naturgemäß sind solche Fragen nicht leicht zu beantworten. Ich möchte aber doch hier die Möglichkeit andeuten, die sich mir als die wahrscheinlichste darstellt [1]).

Wir haben bis zur Ausbildung der Endgastrula einen im Wasser stets Kugelgestalt annehmenden Embryo, der deutlich anzeigt, daß seine Oberfläche den Oberflächenspannungsgesetzen gehorcht, also als Flüssigkeit den Flüssigkeitsgesetzen unterworfen anzusprechen ist. Dies ändert sich bei der Neurulation. Die Oberfläche wird im Verlauf der Neurulabildung zäher, vor allem die Medullarplattenzellen zeigen sich verändert und scheinen immer weniger den Oberflächenspannungsgesetzen unterworfen, wogegen die übrigen Zellen des Ektoderms im Gegensatz dazu

[1]) Wieweit im übrigen diese aus der Analyse abgeänderter Verhältnisse eruierten Kräftewirkungen auch für das normale Verhalten zwingend sind, muß noch in einer weiteren Darlegung erörtert werden, in der auch auf einige anscheinend widersprechende Tatsachen einzugehen wäre.

ihren bisherigen Charakter beibehalten. Das zeigt sich ja besonders deutlich an der breitgedrückten Gestalt der Medullarplattenzellen, welche den Gesetzen der Oberflächenspannung zuwider eine sehr große Oberfläche besitzen. Andererseits geht aber die Veränderung der Medullarplattenzellen nicht so weit, daß sie nicht schon auf sehr *schwache* Druckkräfte zu reagieren vermöchten. Im Gegenteil, wir sehen in den gestreckten Medullarplattenzellen, welche quer zur Druckrichtung stark verbreitert und den Spannungsverhältnissen gemäß orientiert sind, andere, die sich zur Teilung anschicken, und die durch ihre runde, kugelförmige Gestalt, welche völlig unabhängig von den herrschenden Spannungsverhältnissen sich bewahrt, zeigen, daß sie den Druckkräften viel weniger nachgeben, als eben die übrigen Medullarplattenzellen (Abb. 19). Dies kommt natürlich daher, daß die sich teilenden Zellen verflüssigt sind und als Flüssigkeit den Oberflächenspannungsgesetzen unterliegen, welche ihnen Kugelgestalt aufzuzwingen streben; es zeigt diese Tatsache aber doch deutlich, daß gerade der Zustand der Medullarplatte eben derjenige ist, in dem Zug- und Druckkräfte am ersten ihre Wirkung ausüben können. Die Nachgiebigkeit der Medullarplatte läßt sich auch darin erkennen, daß sie — nach *Rhumbler* —, an die Wasseroberfläche gebracht, ebenso, wenn auch etwas langsamer, zerschellt, als die früheren Entwicklungsstadien. Es beweist dies, daß die Oberflächenspannungswirkung der angrenzenden Teile genügt, ihren Einfluß auf die Medullarplattenzellen auszuüben.

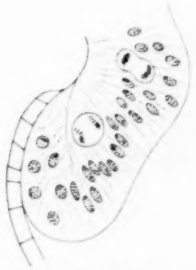


Abb. 19. Runde Mitosen innerhalb der sonst geschichteten Zellen. *Triton.*

Wir hätten also folgende Annahme zu machen: In der Oberfläche des Eies differenziert sich eine Zellplatte in der Weise lokal heraus, daß sie den Oberflächenspannungsgesetzen in geringerem Grade ausgesetzt ist, andererseits aber mechanisch auf sie einwirkenden Kräften den geringsten Widerstand entgegensetzt. Wir hätten also auf der kugeligen Eioberfläche eine Stelle geringerer Oberflächenspannung und, da die Oberflächenspannung einen Hauptfaktor der die Eioberfläche beherrschenden Spannungsverhältnisse darstellt, eine Zone geringerer Druckwirkung innerhalb einer sonst beträchtlichen Spannungen unterliegenden Kugel. Die Folge einer solchen lokalen Verminderung der Oberflächenspannung in einem kugeligen *Tropfen* ist eine Vorwölbung der Oberfläche an dieser Stelle, wodurch hier die Außenfläche vergrößert wird, so lange, bis die entstehenden Spannungskräfte infolge Vermehrung der Angriffsflächen den übrigen Oberflächenspannungskräften die Wage halten. Es wäre dies der Fall der Pseudopodienbildung der Amöben oder besser der Vorwölbungen, wie sie ein

Öltropfen auf lokale Oberflächenspannungsverminderung ausschickt (Abb. 20, *1b*). Wir müssen uns aber vor Augen halten, daß die Wirkung der Oberflächenspannungsverminderung in *unserem Falle* eine andere sein muß. Wir haben hier eine zusammenhängende Zellschicht über einer flüssigkeitsdurchtränkten Innenschicht; wird nun lokal die Oberflächenspannung der *äußeren* verflüssigten Zellschicht herabgesetzt, so braucht das mit der darunter liegenden Schicht nicht der Fall zu sein. Wir werden daher nicht erwarten können, daß diese Innenschicht den Spannungsverhältnissen der äußeren Schicht widerstandslos folgt, sondern vielmehr annehmen müssen, daß sie infolge ihrer starken Krümmung und Stabilität den Veränderungen der dünnen Außenschicht absoluten Widerstand entgegensetzt. Damit hätten wir den Fall einer flüssigen Doppelkugel, bei der die Innenschicht auf Ver-

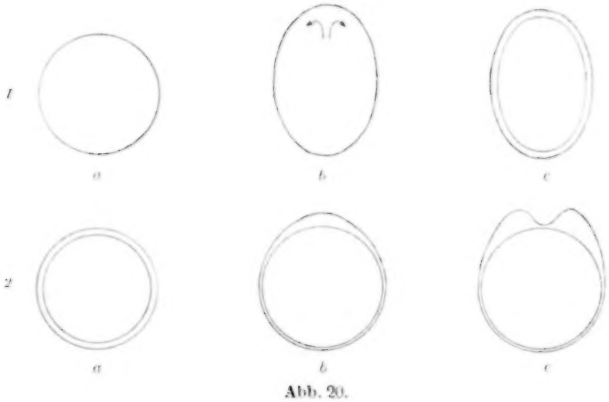


Abb. 20.

änderungen der Außenlage nicht mit anspricht, daher auf solche lokale Oberflächenspannungsverminderung hin ihre Kugelgestalt beibehalten muß. Die Folge eines solchen Verhaltens wäre dann aber die, daß auf lokale Spannungsverminderung außen ein Hinwandern der Außenschicht an die Stelle verminderten Druckes erfolgen muß, wodurch an dieser Stelle die Oberfläche vorgewölbt wird, während sie sich in den übrigen Partien verdünnt und wobei die Innenkugel ihre Kugelgestalt beibehält (Abb. 20, *2b*). Ist aber (wie beim Frosch und *Triton*) in der Mitte dieses vorgewölbten Feldes eine Stelle vorhanden, welche mit der darunter liegenden Schicht fest verbunden ist und sich nicht abheben läßt, so wird eine Doppelwölbung entstehen müssen (Abb. 20, *2c*). Dies gilt aber nur für den Fall, daß die Innenkugel den Spannungen der Außenschicht absoluten Widerstand entgegensetzt. Im anderen Falle wird die Innenschicht mit vorgedrängt werden und es müßten so Bilder entstehen, die an das Verhalten der einfachen homogenen

Tropfen erinnern (Abb. 20, *1 c*), wobei also ein Verlängern in Richtung der in der Druckrichtung liegenden Achse, ein Verkürzen der quer dazu liegenden erfolgt, die Kugelgestalt demgemäß verlassen wird, ohne daß eine wesentliche Verschiebung der Außenschicht über die Innenschicht nötig wird.

Sehen wir uns jetzt die Bilder an, wie sie Querschnitte durch sich bildende Neurulae ergeben (Abb. 21). Wir haben hier folgendes: Zuerst einmal ein Hinwandern der Außenschicht an die Stelle verminderten Druckes (Fall I), zum anderen eine Verengerung der Querachse, Vergrößerung der Vertikalachse (Fall II). Wir hätten damit eine deutliche Abweichung von der vorher herrschenden Kugelgestalt und in der Tat ein Kompromiß der beiden möglichen Wirkungen. Das heißt aber doch wohl, daß wir uns vorstellen können, daß der Druck der Außenschicht sich der Innenschicht mitteilt und sie zum Teil zwingt, die Gestaltsveränderung einzugehen, daß aber andererseits die Innenschicht genügenden Widerstand entgegensetzt, um die Wanderung der Außenschicht an die Stelle des verminderten Druckes möglich zu machen. Wenn wir uns vorstellen, daß in der Gegend der Medullarplatte die Oberflächenspannung herabgesetzt ist und andererseits diese Medullarplattenzellen leicht jedem Druck nachzugeben imstande sind, so ergibt sich meines Erachtens mit einiger Wahrscheinlichkeit die Richtigkeit dieser Anschauungen[1]).

Abb. 21.

Wenn ich nun noch auf die Tatsache der Knickung der Rückenlinie bei LiCl-Embryonen im Gegensatz zur Aufwölbung in der normalen Entwicklung hinweisen darf (Beitrag I, Abb. 2), so ist vielleicht eine Erklärung darin zu suchen, daß hier durch Fällungswirkung die Außenzone zu sehr verfestigt wird und nicht mehr den Spannungsverhältnissen in der Weise zu folgen vermag wie im Normalen; daß aber in der natürlichen Entwicklung gerade in Gegend des Kopfes eine starke Aufwölbung erfolgen muß, da hier die Zone der Hirnzellen eine recht breite Stelle lokaler Oberflächenspannungsverminderung darstellen. Immerhin möchte ich diese Tatsache nur mit allem Vorbehalt hier anführen.

Kämen wir nach dieser Darlegung zu der Auffassung, daß die Verminderung der Oberflächenspannung der Medullarplattenzellen die bewirkende Ursache der Zugkraft des vorstoßenden Ektoderms darstellt, so würde die mißliche Annahme vermieden sein, die früher

[1]) Inzwischen habe ich feststellen können, daß in der Tat die Gegend der Medullarplatte eine Stelle geringeren Widerstands innerhalb der beträchtlichen Spannungen unterliegenden Eioberfläche darstellt.

dazu führte, von einer Wirkung des Hornblattes abzusehen, daß nämlich das Ektoderm bei seiner geringen Mächtigkeit die dicke Medullarplatte vor sich her zu schieben imstande sein sollte, da ja die eigentliche Veranlassung hier in einer beide Zellarten beeinflussenden übergeordneten Kraft zu suchen ist. Ich glaube, daß dieser Versuch einer Beantwortung der Frage, woher der Zug des Ektoderms, der als Hauptfaktor der Medullarfaltung in Betracht kommt, sich erklären läßt, bzw. auf welche Kräfte er zurückzuführen ist, manches für sich hat. Doch hoffe ich, in dieser Hinsicht noch zu gesicherteren Schlüssen zu kommen.

Literatur.

Goette, A.: Die Entwicklungsgeschichte der Unke. Leipzig 1875. — Ders.: Arch. f. mikroskop. Anat. **15**, 139. 1878. — *His, W.:* Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt. 1894. S. 1. — *Roux, W.:* Zeitschr. f. Biol. **21**, 429. 1885. — *Rhumbler:* Ergebn. d. Physiol. Jahrg. 14, S. 474. 1914.

Über Ausbleiben der Teilung, respektive über ungleiche Teilung des Golgischen Apparates während der Spermatogenese bei der Hausspinne (Tegenaria domestica Cl.).

Von

Julja Sokólska.

(Aus dem Zoologischen Institut an der Jan Kazimierz-Universität in Lwów [Lemberg].)

Mit 14 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. März 1924.)

Mit dem Auffinden des Golgischen Apparates in verschiedenen Zellen der Hausspinne beschäftigt, habe ich bemerkt, daß dieser während der ersten Spermatozytenteilung entweder keiner oder einer sehr ungleichmäßigen Teilung unterliegt. Da mir ein solches Verhalten des Golgischen Apparates während der Zellmitose aus der Literatur bislang unbekannt ist, scheint eine nähere Beschreibung dieses eigentümlichen Vorganges angezeigt zu sein[1]).

Im Bukettstadium (Abb. 1) ist das Spermatozyt der Hausspinne schon fast vollständig erwachsen und sein Plasma größtenteils an einem Pole, an welchem sich auch der Golgische Apparat befindet, angesammelt. Die Darstellung (Schwärzung) des Golgischen Apparates wurde mittels zweier Modifikationen der *Sjövall*schen Methode vorgenommen, nämlich mittels des Chrom-Osmium-Verfahrens nach *Hirschler* und des Sublimat-Osmium-Verfahrens nach *Weigl*.

Der Golgische Apparat besteht hier aus membranartigen, ganz unregelmäßig geformten Elementen, von denen nahezu jedes eine besondere Gestalt und Größe aufweist.

In den Spermatozyten, die schon das Maximum ihrer Größe erreicht haben, beobachten wir den Apparat fortwährend an einem Pole entweder in Gestalt einiger kleinerer membranartiger bzw. schalenförmiger Elemente (Abb. 2) oder in Gestalt von kaum zwei Elementen, die sich aber dafür durch entsprechend mächtigere Dimensionen auszeichnen (Abb. 3). Das ist als eine Tendenz zur Konzentration der Apparatelemente zu deuten, die jedoch nie einen solchen Grad erreicht, damit der Apparat in Gestalt eines einheitlichen Körpers aufträte; sogar das Bild, welches uns Abb. 3 zeigt ist schon verhältnismäßig selten, denn

[1]) *Bachr* (Arch. f. Zellforsch. 3. 1909) beobachtete bei der Spermatogenese der Aphiden ein ähnliches Verhalten gewisser Plasmaeinschlüsse, die er als Mitochondrien bezeichnet.

auf diesem Stadium sehen wir gewöhnlich eine größere Anzahl kleinerer Apparatelemente. Diese erscheinen deutlich als becher- oder schalenförmige Gebilde, an welchen eine mit Osmium geschwärzte Hülle und ein ungeschwärzter Inhalt (Apparathülle und Apparatinhalt nach *Hirschler*[1]), chromophile und chromophobe Substanz nach *Hyman*[2]) zu unter-

Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 3.

scheiden ist[3]). Da die Schwärzung der Apparathülle eine transparente ist, erscheint sie im optischen Durchschnitt als ein kreisförmiger oder unregelmäßiger aber nie vollständig geschlossener Ring oder Schleife, deren Inhalt mit dem sie umgebenden Zellplasma in Verbindung steht. Diese Bilder gibt uns das sog. „pachytène"-Stadium, das bei der Hausspinne verhältnismäßig lange anzudauern scheint, denn die Mehrzahl der auf jedem Schnitte zu beobachtenden Zellen gehört eben diesem Stadium an.

Abb. 4.

Abb. 5.

Darauf folgt vielleicht das interessanteste Stadium. Wenn nämlich der Kern deutlich in Vorbereitung zur Teilung begriffen ist und die dicken Chromatinfäden darin schon vollständig regellos gelegen sind, verläßt der Apparat, welcher sich ausschließlich an einem Zellpole aufgehalten hat, seine einpolige Lage und wir sehen seine Elemente im ganzen Zellplasma, d. h. um den Kern herum verstreut. Dabei verwandeln sich gewöhnlich die einzelnen Apparatelemente deutlich in Elemente von mehr primitiver Form, nämlich in Stäbchenelemente um.

[1]) *Hirschler, J.:* Arch. f. mikroskop. Anat. **41**. 1918.

[2]) *Hyman, O. W.:* Journ. of morphol. **37**. 1923.

[3]) Zur Darstellung des Golgischen Apparates bediente ich mich zweier Modifikationen der *Sjövall*schen Methode, nämlich des Chrom-Osmium-Verfahrens nach *Hirschler* und des Sublimat-Osmium-Verfahrens nach *Weigl*.

In dem folgenden Stadium der Tetradenbildung liegen jetzt wieder die Apparatelemente ausschließlich an einem Pole und zwar entweder in der früheren Gestalt membranartiger becherförmiger Gebilde (Abb. 4) in geringer Anzahl von kaum zwei bis höchstens drei oder schon in neuer Gestalt von Schleifenelementen (Abb. 5) mit schwarzgefärbter Apparathülle und hellerem Apparatinhalt, welche Form für die Apparatelemente zur Zeit der ersten Spermatozyten-Mitose charakteristisch ist.

Im Stadium der ersten Spermatozyten-Mitose tritt der Apparat immer in Gestalt von Schleifen auf, deren Zahl wiederum die fast in der Regel nur zwei beträgt und nur in einer Zellenhälfte (Abb. 6—8) zu liegen kommen; selten (Abb. 6) finden wir auch am entgegengetzten Pole Apparatschwärzungen, deren Masse aber im Verhältnis zur Masse der am gegenüberliegenden Pole angesammelten Apparatsubstanz äußerst klein ist. Das macht den Eindruck als ob dieser winzig kleine Teil der

Abb. 6.

Abb. 7.

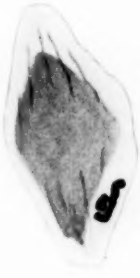


Abb. 8.

Apparatsubstanz nach dem Stadium der verstreuten Lagerung der Apparatelemente ganz zufälligerweise an der alten Stelle geblieben wäre, während die Mehrheit oder auch die ganze Masse der Apparatsubstanz sich im Stadium der Tetradenbildung wieder um den einen Pol herum konzentriert hat.

Diese Bilder deuten auf eine inäquale Teilung der Apparatsubstanz oder auf ein Ausbleiben ihrer Teilung während der ersten Spermatozytenteilung. In demselben Sinne sprechen auch die nächst späteren Stadien, wenn sich die Zelle vollständig in zwei Spermatozyten zweiter Ordnung geteilt hat. In den beiden Tochterzellen treffen wir dann differente Bilder an und zwar befindet sich der ganze Apparat in nur einem Spermatozyte zweiter Ordnung (Abb. 9, 10) während das andere meist keine Spur von Schwarzfärbungen aufweist. Abb. 11 stellt gleichfalls die erste Spermatozytenteilung dar, mit dem Unterschied (was bei der Hausspinne häufig zu beobachten ist), daß ehe noch die vollständige Durchschnürung des Plasmas zwischen den beiden Spermatozyten zweiter Ordnung stattgefunden hat, ihre Kerne schon wieder

in Teilung begriffen sind, wodurch verhältnismäßig oft vielkernige Zellen im Bereiche eines Plasmaterritoriums entstehen. Hier beweist diese Zweiteilung der Kerne, daß wir es mit der ersten Spermatozytenteilung zu tun haben; die dem einen Spermatozyte zweiter Ordnung entsprechende untere Plasmapartie, in welcher wir das Gros der Apparatsubstanz bemerken, ist auf solche Weise angeschnitten worden, daß wir in ihr keinen Kern wahrnehmen.

Indem wir nun die Tatsache der inäqualen Teilung der Apparatsubstanz bzw. das Ausbleiben seiner Teilung im Auge behalten, müssen wir im Anschluß daran auf folgendes aufmerksam machen: eben diese erste Spermatozytenteilung bei der Hausspinne, welche ein ausgeprägtes akzessorisches Chromosom (diese Gebilde haben *Wallace*[1]) und *Painter*[2]) auch bei anderen Araneiden beobachtet) besitzt, verläuft in der Weise, daß jenes in der Mitose doppelt auftretende, ohne den Moment der Metakinese abzuwarten, also schon auf dem Stadium des Muttersterns,

Abb. 9.

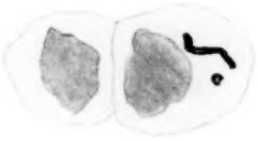


Abb. 10.

Abb. 11.

sich in der Nähe eines der Spindelpole befindet, in ziemlich weiter Entfernung von allen noch in der Äquatorialebene der Zelle liegenden Autosomen. Infolgedessen entstehen aus der ersten Spermatozytenteilung bei der Hausspinne zweierlei Spermatozyten zweiter Ordnung, und zwar solche, die beide Heterochromosomen enthalten und solche, die kein Heterochromosom aufweisen. Wie nun im Hinblick auf die Chromosomengarnitur zweierlei Spermatozyten zweiter Ordnung unterschieden werden können, ebenso lassen sich auch (wie sich dies aus den vorhergehenden Tatsachen ergibt), in Hinsicht auf die in ihnen enthaltene Apparatsubstanz zwei Arten von Spermatozyten zweiter Ordnung unterscheiden. Die eine von ihnen enthält die ganze (Abb. 9, 10) oder fast die ganze (Abb. 11) Masse der Apparatsubstanz, die in der vollkommen erwachsenen Spermatozyte erster Ordnung enthalten war, während die andere entweder überhaupt keinen Apparat oder nur einen verschwindend kleinen Bruchteil desselben enthält. Durch die erste Teilung entstehen also Spermatozyten zweiter Ordnung, die einander weder hin

[1]) *Wallace, L.:* Anat. Anz. **18.** 1900.
[2]) *Painter, T.:* Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. **38.** 1914.

sichtlich ihrer Chromosomengarnitur noch der in ihnen enthaltenen Apparatsubstanz gleichen.

Die Dauer der Spermatozyten zweiter Ordnung scheint ungewöhnlich kurz zu sein. Das folgende Stadium ist auf den Abb. 12—14 dargestellt. Die Kernteilung ist hier schon vollzogen, sogar die Tochterkerne haben sich vollkommen rekonstruiert, nur das Plasma zögert noch mit der Durchschnürung, was bei Spinnen im allgemeinen häufig beobachtet wird. Abb. 12 zeigt uns den Beginn der Plasmaeinschnürung.

Alle drei Abbildungen stellen zweifellos Tochterzellen von Spermatozyten zweiter Ordnung dar, welche die ganze Apparatsubstanz erhalten haben. Wir sehen hier den Apparat fast gleichmäßig zwischen die, den einzelnen Kernen angehörenden, noch nicht voneinander getrennten Plasmaterritorien aufgeteilt. Die Apparatelemente haben hier die Form deutlich membranartiger Gebilde, deren äußere, schwarzgefärbte Hülle wahrscheinlich die Form eines Beckens und im optischen Durchschnitt die Form von Sicheln, unvollkommen geschlossenen Ringen

Abb. 12.

Abb. 13.

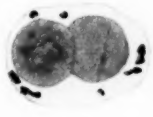


Abb. 14.

oder dreierförmigen Gebilden hat. Aus diesen Bildern können wir schließen, daß in der Spermatozyte zweiter Ordnung, welche während der ersten Teilung den Apparat erhalten hat, dieser Plasmabestandteil während der zweiten Teilung ungefähr gleichmäßig zwischen die beiden Tochterzellen, d. i. zwischen die Spermatiden, verteilt wird.

In gleicher zerstreuter Form finden wir den Apparat in den durch Teilung frisch entstandenen Spermatiden.

Das Bild, welches wir bezüglich des Verhaltens des Golgischen Apparates während der Spermatogenese bei der Hausspinne in den vorangehenden Zeilen entworfen haben, bedarf noch einiger Ergänzungen, die wir demnächst einzuholen beabsichtigen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht dem Direktor des Instituts Herrn Prof. Dr. *Jan Hirschler* für die seinerseits erfahrene Unterstützung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. —

Lwów (Lemberg) im Februar 1924.

Pancreasläppchen in der Milz einer jungen Katze.

Von

Robert Kuntschik und Georg Salzer.

(Aus dem Histologischen Institut der Universität Wien,
Vorstand: Prof. Dr. *Josef Schaffer*.)

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. April 1924.)

Gelegentlich der Untersuchung einer Katzenmilz konnten wir feststellen, daß in diesem Organ einerseits Pancreaszellgruppen eingeschlossen waren, während andererseits die Milz mit ihren Gewebselementen in das ihr anliegende Pancreas eindrang. Es handelt sich also um eine Versprengung von Pancreasgewebe in die Milz und um teilweise Verwischung der anatomischen Grenzen zwischen beiden Organen.

Das untersuchte Material stammte von einem 5 Wochen alten gesunden männlichen Kätzchen, das sich in gutem Ernährungszustand befand. Es war mit Chloroform getötet worden und verschiedene Organe wurden zur histologischen Untersuchung entnommen. Eine genauere anatomische Untersuchung hatten wir nicht vorgenommen, da wir nur die Herstellung normal-histologischer Präparate beabsichtigten, so daß leider die näheren topographischen Beziehungen zwischen Milz und Pancreas nicht festgestellt worden waren. Im Gekröse der Milz waren Läppchen eingeschlossen, die wir für mesenteriales Fett hielten. Erst die histologische Untersuchung ergab, daß es sich teilweise um Pancreasläppchen handelte. Die genaueren Verhältnisse sind die folgenden. (Siehe Übersichtsbild Abb. 1.)

Das im Gekröse der Milz liegende Pancreas reicht am Hilus der Milz auf eine Strecke von etwa $^5/_4$ mm in deren Längsrichtung und auf 2,3 mm in der Breite so an jene heran, daß die bindegewebigen Kapseln beider Organe zu einer einheitlichen Grenzschicht verschmelzen, was besonders schön an nach *Mallory* gefärbten Schnitten zu sehen ist. Diese Bindegewebsschicht wird nun an mehreren Stellen von Pancreasläppchen und -schläuchen durchbrochen, welche vom Hauptkörper der Drüse abgehen und verschieden weit in die Milz hineinragen. Man kann diese Schläuche nicht etwa als Ausstülpungen des Pancreas auffassen, die in Buchten der Milz hineinreichen; denn sie werden nicht von einer Fortsetzung der zwischen beiden Organen liegenden Bindegewebsschicht begleitet und umhüllt, sondern besitzen bloß eine zellige Membrana propria. Auch weitab vom Hauptkörper des Pancreas finden

sich Pancreasläppchen in der Milz versprengt, von denen die am weitesten entlegenen schon nahe der lateralen (diaphragmalen) Milzoberfläche liegen. Alle in die Milz hineinragenden oder versprengten Pancreasläppchen sind regellos in sie eingelagert, ohne einheitliche topographische Beziehungen zu ihren Gewebselementen einzugehen. Am häufigsten findet man sie in der Pulpa; sie durchwachsen aber auch *Malpighi*sche Körperchen, seltener schließen sie sich dem Verlaufe der Trabekel an oder sind sogar in sie eingelagert. Von den mit dem Hauptkörper des

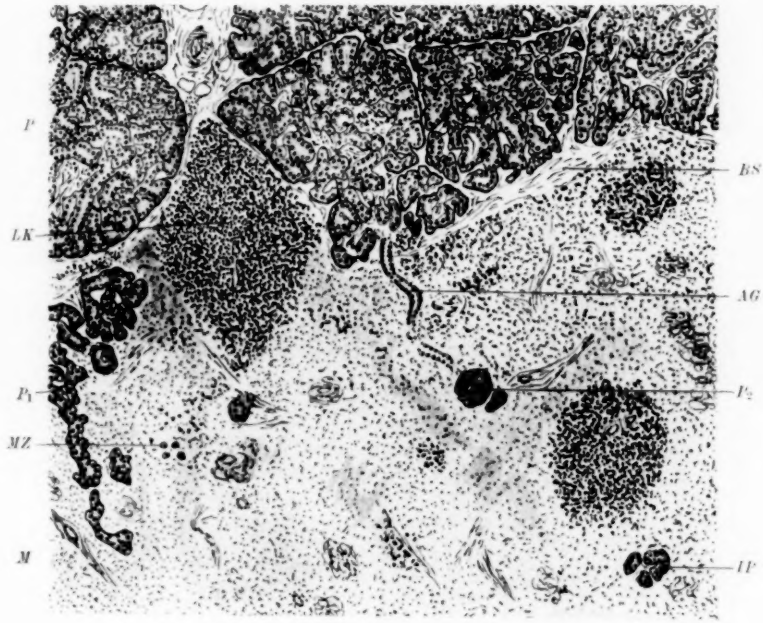


Abb. 1. Übersichtsbild. (Hämalaun-Eosin. Vergr. ca. 100, auf 4/5 verkleinert.)
BS Bindegewebsschicht zwischen Pancreas und Milz; *M* Milz; *MZ* Megakaryocyten; *LK Malpighi*sches Körperchen, das sich keilförmig ins Pancreas vorschiebt; *P* Pancreas; P_1 in die Milz einwuchernde Pancreasschläuche; P_2 versprengtes Pancreasläppchen mit Ausführungsgang *AG*; *IP* vollständig isoliertes Pancreasläppchen.

Pancreas nicht direkt in Verbindung stehenden versprengten Läppchen gehen stellenweise Ausführungsgänge ab. Diese haben im Verhältnis zu den zugehörigen Läppchen oft recht große Dimensionen, vereinigen sich bisweilen noch innerhalb der Milz zu größeren und durchbohren nach manchmal auffallend langem, selbständigem Verlauf die mehrfach erwähnte bindegewebige Trennungsschicht, um ins Pancreas überzugehen. Bei der Verfolgung der Serie sind auch solche Läppchen nachzuweisen, die mit dem Hauptkörper der Drüse weder unmittelbar noch mittelbar in Zusammenhang stehen, sondern allseits von Milzgewebe umschlossen

sind, so daß es bei ihnen zu einer vollständigen Isolierung gekommen ist. Auch diese Läppchen haben gegen das umgebende Milzgewebe keine bindegewebige Umhüllung.

Der zellige Aufbau und der Zustand des in die Milz versprengten Pancreasgewebes ist nun an verschiedenen Stellen ganz verschieden. Es finden sich Läppchen, deren Membrana propria vollständig ist und die ein deutliches Lumen besitzen[1]). Die Zellen besitzen die bekannte Form von Pyramidenstutzen mit nach außen gerichteter Basis. Man kann deutlich eine äußere Zone, die den großen kugeligen Kern mit deutlichem Kernkörperchen enthält, und eine innere mit Zymogengranulis gefüllte unterscheiden. Auch zentroacinäre Zellen sind manchmal vorhanden. Das Aussehen ist also wie bei normal exokrin funktionierenden Acinis mit geladenen Zellen. Es sei gleich hier bemerkt, daß wir *Langerhans*sche Zellinseln weder in den der Milz anliegenden noch in den in sie versprengten Pancreasteilen finden konnten. Im Gegensatz zu den eben beschriebenen, wohlerhaltenen Pancreasläppchen gibt es aber auch solche, die in Zerfall begriffen sind. Man kann an ihnen alle Stadien der beginnenden und fortschreitenden Zerstörung vom wohlerhaltenen Acinus bis zur fast vollständigen Auflösung beobachten. Der Gang der Zerstörungist der, daß an einer Stelle eines Läppchens Milzgewebe wie durch eine Art Hilus eindringt (Abb. 2), das Lumen erfüllt und von innen heraus eine Auflösung durch die phagocytäre Tätigkeit von Milzelementen erfolgt. Von einer vorhergehenden Atrophie oder Nekrose der Läppchen ist nichts zu sehen und das Eindringen von Milzgewebe ist keine sekundäre Erscheinung, etwa um die Reste der nekrotischen Zellen wegzuschaffen, sondern es ist das Primäre, da beim ersten Eindringen von Milzgewebe die Kerne der Pancreaszellen noch gut erhalten sind und die Zellen sogar noch reichlich Zymogenkörnchen

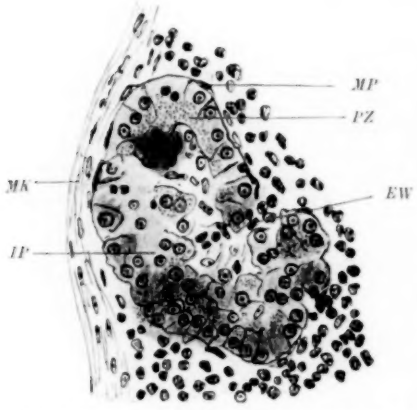


Abb. 2. Beginnende Zerstörung eines eingesprengten Pancreasläppchens *IP*.
EW einwucherndes Milzgewebe; *MK* Milzkapsel; *MP* Membrana propria; *PZ* Pancreaszellen mit Zymogengranulis geladen.
(Abb. 2 und 3: Färbung Hämalaun-Eosin; Vergr. ca. 500, auf $^3/_4$ verkleinert.)

[1]) Im Gegensatz zum Hauptkörper der Drüse, in dem sich einige durch Sekretstauung cystisch erweiterte Acini finden, die mit einer durch die Fixation geronnenen Masse gefüllt sind, ist das Lumen der versprengten Läppchen nirgends auffallend erweitert.

enthalten. In einem späteren Stadium (Abb. 3) sind die Zymogengranula nicht mehr zu sehen und die Zellen erscheinen von den eingedrungenen phagocytären Elementen der Milz wie angenagt. Auch die Membrana propria ist nicht mehr vollständig. Dadurch ist die Anordnung zu Schläuchen ganz unkenntlich gemacht und einzelne Pancreaszellen kommen frei und ohne Zusammenhang mit anderen ins Milzgewebe zu liegen.

Was die Ausführungsgänge anlangt, so besitzen sie ein kubisches bis zylindrisches Epithel mit gut erhaltenen Kernen und hellem Protoplasma. Ihre Abgrenzung gegen das Milzgewebe erfolgt durch eine zellige Membrana propria. Eine bindegewebige Hülle fehlt ihnen ebenso wie den versprengten Drüsenläppchen.

In dem beschriebenen Falle handelt es sich gewissermaßen um eine von der Natur selbst unter idealen Bedingungen vorgenommene Transplantation von Pancreas in Milz. Interessant ist der Vergleich dieses Falles mit den Ergebnissen experimentell vorgenommener Transplantationen. Verpflanzung von Pancreasgewebe in Milz haben *Ottolenghi* (1), *Kyrle* (2), *Pratt* und *Murphy* (3) versucht. *Ottolenghi*, der das Meerschweinchen als Versuchstier wählte, beobachtete im Innern des transplantierten Stückes Nekrose, während in der Peripherie das Gewebe zunächst erhalten blieb. In der peripheren Zone bildeten sich durch Erweiterung der Lumina kleine Cysten; kleinere Ausführungsgänge wuchsen in die Länge, waren aber beiderseits blind geschlossen. Aus den größeren Ausführungsgängen entstanden ebenfalls Cysten, die aber bedeutend größer waren, als die aus den Acinis hervorgegangenen. Durch reichliche Bindegewebswucherungen wurde der größte Teil des Transplantates ersetzt. *Kyrle*, der an Hunden und Meerschweinchen operierte, sah das Parenchym, soweit es nicht infolge der schlechten Ernährung gleich nach der Operation der Nekrose verfallen war, atrophieren, die Ausführungsgänge dagegen wuchern. Von diesen bildeten sich wieder Drüsenläppchen; doch konnte diese Neubildung für den Zerfall nicht aufkommen und Bindegewebe ersetzte die Defekte. Auch *Pratt* und *Murphy* fanden bei Hunden und Katzen bindegewebige Involution des in die Milz verpflanzten Pancreasstückes. Nur in einem Fall, wo gestielt transplantiert und der

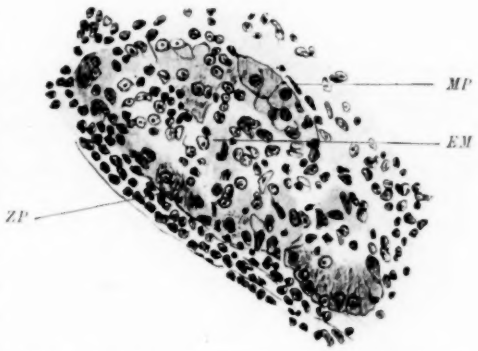


Abb. 3. Zerfallendes versprengtes Pancreasläppchen. *EM* eingedrungenes Milzgewebe; *MP* noch erhaltene Zellen der Membrana propria; *ZP* zerfallende Pancreaszellen.

Stiel in einem zweiten Akt durchschnitten wurde, erhielten sich in dem ersetzenden Bindegewebe einige Läppchen. In unserem Fall, wo jede bei der Operation unvermeidliche Schädigung des Transplantates ausgeschaltet ist, unterliegt das versprengte Pancreasgewebe ohne vorausgehende Atrophie dem aktiven Angriff der Milz. Und doch sollte man für die Pancreaszellen bei dem jugendlichen Alter des noch in Entwicklung begriffenen Individuums eine besondere Vitalität und Widerstandsfähigkeit annehmen. Daß diese nicht genügt, um dem Angriff der Milz standzuhalten, beweist deren große phagocytäre Kraft gegen organfremdes Gewebe. Durch diese Gewebszerstörung erklärt sich auch das Vorhandensein von vollständig isolierten Pancreasläppchen. Man muß sich vorstellen, daß von den ursprünglich kontinuierlich zusammenhängenden, in die Milz einwachsenden Pancreasschläuchen Teile zerstört wurden, wodurch einzelne Läppchen aus dem Verbande gelöst, abgeschnürt und isoliert wurden. Das Vorhandensein langer Ausführungsgänge, die frei in der Milz liegen und an denen manchmal ein ganz unverhältnismäßig kleines Läppchen hängt, wird wohl so zu verstehen sein, daß ein Teil der dem Ausführungsgang anliegenden Läppchen schon der Zerstörung anheimgefallen ist, während dieser selbst erhalten blieb. Die Resistenz der Ausführungsgänge, die sich hier zeigt, geht auch aus den oben erwähnten Versuchen *Kyrles* hervor, sowie aus Transplantationsversuchen, die *H. Fischer* (4) mit dem Pancreas von Amphibien angestellt hat. Ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber den Transplantationsversuchen ist, daß in unserem Fall das zerstörte Pancreasgewebe nicht durch Bindegewebe ersetzt wird, sondern spurlos verschwindet.

Auch andere Organe wurden vielfach experimentell oder aus therapeutischen Gründen in die Milz verpflanzt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind recht verschieden. Am günstigsten sind noch die Resultate bei Verpflanzung von Schilddrüsengewebe. Es seien nur einige Versuche erwähnt. So implantierte *Payr* (5) bei Hunden, Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen Thyreoidea in die Milz und konnte die Tiere nach der Operation trotz Entfernung der normal gelagerten Schilddrüse einige Monate am Leben erhalten; daraus geht hervor, daß das Transplantat funktionstüchtig erhalten blieb. Bei einem myxödematösen 6 jährigen Mädchen erzielte er sogar durch homoioplastische Transplantation von Schilddrüsengewebe der Mutter in die Milz des Kindes somatische und intellektuelle Fortschritte (6). Auch *Carraro* (7) brachte Thyreoideagewebe in der Milz bei Kaninchen zur Einheilung, doch gibt er anderen Transplantationsstellen (Peritonealhöhle, subcutanes Zellgewebe) den Vorzug. Heteroplastische Verpflanzungen waren erfolglos (8). Auffallend lang (3 Jahre) blieb ein von *Stilling* (9) bei einem Kaninchen in die Milz verpflanztes Epoophoron mit normaler Struktur erhalten. Diesen verhältnismäßig günstigen Ergebnissen, die aber auch meist

keine Dauererfolge bedeuten, steht eine große Anzahl von schlechten gegenüber. So gingen Nebennierenstücke, die *Coenen* (10) bei Hunden, *Moussu* und *Le Play* (11) bei Hunden und Kaninchen in die Milz verpflanzten, zugrunde und auch Kaninchenmilz, die *Lüdke* (12) (allerdings heteroplastisch) in die Milz von Hunden und Affen verpflanzte, ließ sich nach 2 bis 3 Monaten nicht mehr nachweisen. Von den ungünstigen Ergebnissen bei Pancreastransplantationen war schon oben die Rede. Aus der großen Zahl der Versuche, die über die Verpflanzung von drüsigen Organen in die Milz mit meist ungünstigem Erfolg angestellt wurden, haben wir hier nur einige herausgegriffen. Aus ihnen sowie aus unserem Falle, der gleichsam ein Naturexperiment mit Vermeidung aller technischen Fehler darstellt, ergibt sich für den Erfolg einer Transplantation von parenchymatösen Organen in die Milz im allgemeinen eine nicht sehr günstige Prognose.

Zurückkehrend zu unserem Befund an der Katzenmilz möchten wir kurz die Frage nach der Funktion der versprengten Pancreasläppchen streifen. Bei den gut erhaltenen Läppchen läßt der direkte Zusammenhang mit dem exokrinen Teil der Drüse, bzw. das Vorhandensein von Ausführungsgängen sowie der reichliche Gehalt an Zymogenkörnchen die Annahme berechtigt erscheinen, daß es sich um normal exokrin funktionierendes Pancreasgewebe handelt. Den vollständig isolierten und von der Milz angegriffenen Läppchen ist wohl keine Funktion mehr zuzuschreiben. Schon oben wurde darauf verwiesen, daß endokrine Elemente nirgends nachzuweisen waren.

Die Milz greift aber nicht nur die in sie versprengten Pancreasläppchen an, sondern sie dringt stellenweise auch gegen den ihr anliegenden Hauptkörper der Drüse vor (Abb. 1), und zwar teils selbständig, teils in Begleitung der Ausführungsgänge. Hauptsächlich sind es *Malpighi*sche Knötchen, die ins Pancreas vorgeschoben sind und ganze Drüsenlappen ersetzen können. Das ins Pancreas vorgedrungene Milzgewebe hat seinerseits wieder Drüsenschläuche umwachsen, an denen sich Zerfallserscheinungen bemerkbar machen. Es ist gegen die Umgebung nicht scharf abgegrenzt, sondern Lymphocyten dringen auch noch ins interlobuläre Bindegewebe vor, das stellenweise ganz von ihnen durchsetzt ist. An den Stellen, wo einerseits Pancreasschläuche und -ausführungsgänge in die Milz übergehen, andererseits Milzgewebe ins Pancreas reicht, und selbst Pancreaszellen umschließt, entsteht eine bunte Durchmischung der Gewebe, so daß eine Grenze zwischen beiden Organen schwer zu ziehen ist.

Eine Versprengung von Pancreas in Milz beschreibt auch *Weidman* (13) bei einer 21jährigen Frau, die an Peritonitis gestorben war. Er fand in der stark verdickten Milzkapsel reichlich Pancreasgewebe, und zwar besonders Ausführungsgänge sowie eosinophil granulierte Acini und

*Langerhans*sche Zellinseln. Aber auch in die Milz selbst reichten Pancreasschläuche ohne bindegewebige Umhüllung hinein, so daß die Milzpulpa direkt an die Pancreaszellen zu liegen kam. Auch der gegenteilige Fall ist beschrieben, nämlich Milzgewebe im Pancreas. So beobachtete *Hironaka* (14) beim Menschen in der Cauda pancreatis ein 2,5 cm langes und 1,8 cm breites Gebilde, das sich als Milz erwies, und *Gibbes* (15) fand in einem Katzenpancreas eine kleine akzessorische Milz, die einige Schläuche umwachsen hatte. Innige topographische Beziehungen des Pancreas zu seinen Nachbarorganen beschreibt *Laguesse* (16) bei einigen niedrigeren Vertebraten: Er fand bei *Crenilabrus melops* (17), einem Teleostier, ein ständig vorkommendes „Pancréas intrahépatique", welches in Begleitung der Pfortaderäste weit in die Leber eindringt. Bei einigen Schlangen (18), z. B. *Vipera aspis*, bei denen die Milz häufig vom Pancreas umgriffen wird, sah er isolierte Pancreasläppchen (hauptsächlich *Langerhans*sche Zellinseln) in der Milz und kleine akzessorische Milzen im Pancreas. Keine Einwucherung von Pancreas in Milz, wohl aber eine sehr innige Aneinanderlagerung beider Organe konnte er sehr häufig bei der Taube (19) feststellen, bei der ein vom übrigen Organ losgetrenntes akzessorisches Pancreas der Milz breit angelagert ist (largement soudé).

Literatur.

1. *D. Ottolenghi:* Sur la transplantation du pancréas. Arch. ital. de biol. **36**, 3, 447—454. — 2. *J. Kyrle:* Über Regenerationsvorgänge im tierischen Pancreas. Arch. f. mikroskop. Anat. **72**. 1908. — 3. *I. H. Pratt* and *F. T. Murphy:* Pancreatic transplantations in the spleen. Journ. of exp. med. **17**, 580. März 1913. — 4. *H. Fischer:* Regeneration und Transplantation des Pancreas von Amphibien. Arch. f. mikroskop. Anat. **77**. 1911. — 5. *E. Payr:* Transplantation von Schilddrüsengewebe in die Milz. Verhandl. d. dtsch. Ges. f. Chirurg. **35**. Kongr. Berlin 1906. S. 503—599. — 6. Ders.: Nachtrag zur Mitteilung über Transplantation von Schilddrüsengewebe. Arch. f. klin. Chirurg. **80**, 4, 1030—1031. — 7. *A. Carraro:* Über Schilddrüsenverpflanzung in verschiedene Organe. Dtsch. Zeitschr. f. Chirurg. **97**, 201—223. — 8. Ders.: Über heteroplastische Verpflanzungen. Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **3**, 2, 382—392. — 9. *H. Stilling:* Über den Bau und die Transplantation d. Epoophoron. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **43**, 263—283. — 10. *H. Coenen:* Über Nebennierenverpflanzung. Arch. f. klin. Chirurg. **81**, 2, 288—306. 1906. — 11. *Moussu* et *Le Play:* Essais d. greffes d. caps. surrénal. sur la rate. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. Paris **66**, 2, 83—85. — 12. *H. Lüdke:* Über Milztransplantationen. Münch. med. Wochenschr. S. 1469 u. 1538. 1909. — 13. *F. Weidman:* Aberrant pancreas in the spleen capsule. Anat. record **7**, 4, 133—139. — 14. *Hironaka:* Nebenmilz im Pancreas. Organ d. med. Ges. Kyoto **5**, 3, 1908. — 15. *H. Gibbes:* On some points of the min. struct. of the pancreas. Quart. journ. of microscop. science **24**, 183—185. 1884. — 16. *E. Laguesse:* Le Pancréas. Lyon 1906. — 17. Ders.: Sur le pancréas du Crénilabre . . . Rev. biol. du Nord de la France **7**. 1894/95. — 18. Ders.: Sur la struct. du pancréas chez quelques Ophidiens . . . Arch. d'anat. microsc. **4**, 2/3. Nov. 1901. — 19. Ders.: Preuve experim. du balancement des îlots de *Langerhans*. Journ. de physiol. et de pathol. gén. **1**. Jan. 1911.

Der Exkretionsapparat (kontraktile Vakuole) der Protozoa als Homologon des Golgischen Apparats der Metazoazellen.

Von

Dimitry Nassonov,

Assistenten am Histologischen Laboratorium der Universität St. Petersburg
(Vorstand Prof. Dr. *D. Dsineka*).

Mit Tafel I—III und 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. März 1924.)

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Bau und Funktion des Exkretionsapparats der Protozoa 438
a) Historisches 438
b) Technik und Material 442
c) Exkretionsapparat der Infusoria peritricha 445
d) Exkretionsapparat der Infusoria holotricha (*Lionotus folium*, *Nassula lateritia*) 451
e) Bau und Funktion des Exkretionsapparats bei *Paramaecium caudatum* 453
f) Entstehung und Entwicklung der Extravakuolen bei *Paramaecium caudatum* 459
g) Exkretionsapparat bei *Chilomonas paramaecium* (Flagellata) . . 463
h) Zusammenfassung 463
II. Bau und Funktion des *Golgi*schen Apparats der Metazoazellen . . 464
III. Der Exkretionsapparat der Protozoa als Homologon des *Golgi*schen Apparats der Metazoazellen 471
IV. Schluß 476

Die Grundidee der vorliegenden Arbeit ist durch den Titel ausgedrückt. Während meiner, mit Hilfe der neuesten cytologischen Methoden vorgenommenen Studien am Plasma der Protozoa, bin ich zum Ergebnis gelangt, daß das sogenannte „Binnennetz" der Metazoa ein Gebilde darstellt, welches der pulsierenden Vakuole der Protozoa, oder richtiger ihrer Membran entspricht.

Auf den ersten Blick könnte diese Idee paradox erscheinen. In der Tat, was hat das komplizierte, nur nach Behandlung mit speziellen Methoden auftretende Netz, welches beispielsweise den Kern der Nervenzelle der Wirbeltiere umgibt, mit dem schon in vivo gut sichtbaren hellen periodisch erscheinenden und wieder verschwindenden Tropfen — mit der pulsierenden Vakuole irgendeiner Infusorie gemeinsam? Und doch haben sich zugusten dieser Annahme soviel Tatsachen angesammelt, daß ich mich entschlossen habe, dieselbe, wenn auch nur in Form einer Hypothese auszusprechen.

Ich halte es für meine angenehme Pflicht meinen verbindlichsten Dank Herrn Professor Dr. *D. J. Deineka* und Professor Dr. *V. A. Dogjel* für ihre freundlichen Entgegenkommen auszusprechen, und gleichfalls der Administration des Peterhofschen Naturwissenschaftlichen Instituts, in dessen histologischem Laboratorium der wesentlichste Teil der vorliegenden Arbeit angefertigt worden ist.

I. Bau und Funktion des Exkretionsapparates der Protozoa.

a) Historisches.

Seit dem Erscheinen der Arbeit von *Spallanzani* (1766), wurde dem Studium des Baues und der Funktion der pulsierenden Vakuole eine bedeutende Anzahl von Schriften gewidmet. Dieses Organ rief das Interesse der Protistologen hervor, sowohl dank seiner großen Verbreitung, welche auf seine wichtige Rolle schließen ließ, als auch dank der rätselhaften Regelmäßigkeit seiner Arbeit.

Es wurden mehrere Annahmen in betreff der Struktur und der Funktion der pulsierenden Vakuole ausgesprochen, und da das Verständnis der Funktion gewöhnlich von der richtigen Vorstellung von der Struktur abhängt, so fielen auch allmählich mit der Lösung einiger rein morphologischen Fragen, die fehlerhaften Hypothesen über die Bedeutung dieses Organoids ab. So haben z. B. die Ansichten von *Lieberkühn* ('56), *Claparède* ('54), *Lachmann* ('59), *Siebold* ('54) und *Pritchard* ('61), die die Vakuole für ein rudimentäres Herz hielten, gegenwärtig nachdem es bewiesen worden ist, daß die pulsierende Vakuole mit der Umgebung in Verbindung steht, und infolgedessen kein geschlossenes System im Inneren des Organismus sein kann, nur historisches Interesse. Dasselbe gilt auch von der Annahme *Ehrenbergs* ('38), welcher die pulsierende Vakuole als ein der männlichen Geschlechtsdrüse der Metazoa entsprechendes Organ betrachtete.

Sehen wir von diesen veralteten Hypothesen ab, so können wir feststellen, daß gegenwärtig drei Ansichten über die Rolle des uns interessierenden Gebildes miteinander konkurrieren:

1. die pulsierende Vakuole ist ein Respirationsorgan (*Spallanzani* [1776], *Dujardin* ['38], *Schmidt* ['49], *Roßbach* ['74] und zum Teile *Bütschli* ['77] und *Degen* ['05]);

2. die pulsierende Vakuole ist ein Exkretionsorgan (*Stein* ['59], *Griffith* ['89], *Gruber* ['89] und eine ganze Reihe anderer Forscher);

3. die pulsierende Vakuole stellt ein Organ dar, welches den osmotischen Druck im Innern des Organismus reguliert und letzteren vor dem Eindringen des Wassers von außen schützt (*Hartog* ['88], *Gruber* ['89], *Degen* ['05], *Stempell* ['14] u. a.).

Übrigens schließen diese drei Ansichten einander keineswegs aus, und die Mehrzahl der Forscher, welche der einen dieser Annahmen den Vor-

zug geben, lassen gleichzeitig die Möglichkeit der anderen zwei Funktionen zu. Ihrem Wesen nach sind ja auch die drei erwähnten Funktionen einander äußerst ähnlich. Die Atmung, als Ausscheidung gashaltiger Produkte des Stoffwechsels, stellt eine Abart der Exkretion im weitesten Sinne dieses Wortes dar; was nun die Absonderung des überflüssigen Wassers aus dem Organismus anbetrifft, so übernehmen in den meisten Fällen und in den allerverschiedensten Klassen des Tierreiches diese Funktion gerade die Exkretionsorgane. Wie wir es weiter sehen werden, sind die Forscher, welche die pulsierende Vakuole für einen osmotischen Regulator halten, gezwungen anzunehmen, daß die durch dieses Organoid ausgeschiedene Flüssigkeit eine Salzlösung ist, die sich zu dem Protoplasma hyperton verhält, d. h. sie rechnen mit der exkretorischen Funktion der Vakuole als mit einer unumgänglichen Voraussetzung für ihre osmotische Theorie der Pulsierung.

Welche Beweise werden nun zugunsten der einen oder der anderen Ansicht angeführt? Soviel mir bekannt ist, haben wir in der Literatur keine direkten Beweise für die respiratorische Funktion dieses Organoids; zugunsten der Exkretionstätigkeit der Vakuole sprechen die — obwohl von niemandem bestätigten — Beobachtungen von *Griffith* ('89), der in der pulsierenden Vakuole der *Amoeba*, *Vorticella* und *Paramaecium* Spuren von Harnsäure gefunden haben soll; was die osmotische Theorie der Pulsierung anbetrifft, so haben sich in der letzten Zeit soviel Tatsachen, welche dafür reden, angesammelt, daß sie zweifelsohne die glaubwürdigste und wissenschaftlich am besten begründete ist, und deshalb wollen wir etwas eingehender die zugunsten dieser Auffassung angeführten Tatsachen analysieren.

Als erste Arbeit, in der wir auf bestimmte Weise den Gedanken ausgesprochen finden, die pulsierende Vakuole sei ein osmotisches Organ, dessen Bestimmung in der Absonderung des überflüssigen Wassers aus dem Organismus liegt, muß *Hartogs* 1888 veröffentlichte vorläufige Mitteilung gerechnet werden. 1889 wurde derselbe Gedanke beiläufig von *Gruber* erwähnt auf Grund seiner Beobachtungen an den Veränderungen im Plasma der *Actinophris* und *Amoeba cristalligera* bei ihrer Übertragung aus Salz- in Süßwasser und umgekehrt. Am detailliertesten ist diese Theorie von *Degen* ('05) entwickelt worden, der auf Grund zahlreicher Experimente die innige Abhängigkeit des Mechanismus der Pulsierung von dem osmotischen Druck des Mediums außer jedem Zweifel gestellt, und diesen Tatsachen eine vollkommen erschöpfende Erklärung gegeben hat.

Degens Hauptobjekt war die Infusorie *Glaucoma colpidium*. Er ermittelte den Einfluß der Temperatur der im Wasser gelösten Gase, der neutralen Stoffe, Basen, Säuren und schließlich der Fällungsmittel für Eiweißkörper, auf das Tempo und den Charakter der Pulsierung.

Schwache Lösungen von Säuren und Basen beeinflußten in keinerlei Weise die Arbeit der Vakuole, wogegen starke Lösungen das Tier töteten. Dagegen neutrale Stoffe, wie Rohrzucker, NaCl, KCl, $NaNO_3$, KNO_3, Na_2SO_4, $MgSO_4$, riefen eine gesetzmäßige Verzögerung hervor. Der Forscher untersuchte die Abhängigkeit des Grades der Verzögerung von der Konzentration der Lösung und erzielte bemerkenswerte Resultate. Es stellte sich heraus, daß isosmotische Lösungen verschiedener neutraler Stoffe vollkommen gleiche Verzögerungen in der Pulsierung bedingen, woraus *Degen* ganz richtig den Schluß zieht, daß die Verzögerung in der Pulsierung ausschließlich von der Höhe des osmotischen Druckes des Mittels, nicht aber von der chemischen Zusammensetzung dieser oder jener neutralen Lösung abhängt.

Weiter erwähnt der Verfasser, daß ausnahmslos alle nackten einzelligen in Süßwasser lebenden Organismen, sowohl die Protisten, als auch die freischwimmenden Geschlechtselemente der Pilze oder Algen, mit pulsierenden Vakuolen versehen sind, während sie bei vielen Seetieren und parasitierenden Formen fehlen. Dieses weist auf die innige Abhängigkeit der Pulsierung von dem osmotischen Drucke des Mittels hin.

Wie denkt sich der Forscher den Mechanismus der Pulsierung im Lichte dieser Tatsache? Das Plasma der Infusorien enthält Lösungen von Salzen mit höherem osmotischen Druck als in dem sie umgebenden Medium. Diese Druckdifferenz muß einen verstärkten Zufluß des Wassers ins Innere der Infusorie hervorrufen. Wenn nun der Organismus keine Vorrichtungen hätte, die ihn vor diesem Zuflusse schützen, so müßte er unumgehend anschwellen und zugrundegehen. Dieses findet aber nicht statt. *Degen* meint, daß gerade die kontraktile Vakuole zur Ausscheidung des überflüssigen Wassers aus dem Organismus der Infusorie dient.

Welche Kräfte bedingen die Ansammlung des für den Körper überflüssigen Wassers in dem Hohlraume der Vakuole? Zur Erklärung dieses Prozesses müssen zwei Voraussetzungen gemacht werden. Erstens muß die Anwesenheit einer semipermeablen Membran der Vakuole vorausgesetzt werden, und zweitens sind wir gezwungen anzunehmen, daß dem Inhalte der Vakuole stets ein höherer osmotischer Druck eigen ist, als dem sie umgebenden Plasma. Nur unter diesen Bedingungen wird das Wasser aus dem Körper durch die semipermeabele Membran ins Innere der Vakuole diffundieren, wird sie bis zur Diastole ausdehnen, wonach die dünne Pelliculaschicht, welche die Vakuole von dem sie umgebenden Medium trennt, dank dem erhöhten Druck reißt, und der Inhalt ausgestoßen wird. Diese beiden Annahmen sind für mich von größtem Interesse.

Die Frage über die Existenz einer permanenten Membran bei der kontraktilen Vakuole hat schon längst Meinungsverschiedenheiten her-

vorgerufen. Hier ist die von *Taylor* ('23) angeführte Liste der Forscher, welche zu dieser Frage Stellung genommen haben: gegen die Anwesenheit einer beständigen Membran: *Dujardin* ('38), *Meyen* ('39), *Stein* ('59), *Wrzesniowski* ('69), *Perty* ('52), *Schmidt* ('49), *Zenker* ('66), *Maupas* ('83), *Rhumbler* ('98), *Bütschli* ('87), *Lankester* ('09), *Khainsky* ('10), *Schewiakoff* ('96) und *Taylor* ('23) selbst; für die Gegenwart einer Membran: *Ehrenberg* ('38), *Siebold* ('54), *Claparède* ('54), *Lachmann* ('59), *Degen* ('05), *Stempell* ('14), *O. Hertwig* ('23) und einige andere. Somit verneinen die meisten neueren Forscher, und unter ihnen Autoritäten wie *Bütschli* und *Rhumbler*, die Anwesenheit einer Membran; eine Ausnahme bilden die Anhänger osmotischer Theorie, die auf Grund rein theoretischer Mutmaßungen dieselbe anzuerkennen gezwungen sind. *Degen* selbst hat die Membran nicht gesehen, setzt aber eine unsichtbare, nur physiologisch differenzierte Hülle voraus. Wie wir es weiter sehen werden, haben sich *Degens* theoretische Spekulationen vollkommen bewährt. Mit Hilfe der Osmierungsmethode ist es mir gelungen, die Existenz einer echten permanenten lipoiden Membran bei der pulsierenden Vakuole zu beweisen.

Was nun die zweite unumgängliche Bedingung für eine Pulsierung (nach *Degen*) anbetrifft — die ununterbrochene Aufrechthaltung eines bestimmten osmotischen Druckes im Innern der Vakuole —, so kann dieselbe nur auf diese Weise gedacht werden, daß in der Nähe der Vakuole oder in ihrem Innern eine beständige Quelle vorhanden ist, welche dem Inhalte der Vakuole osmotisch aktive Stoffe zuführt. Als solche Quelle könnte die Membran selbst dienen.

Man kann die Mutmaßung aussprechen, auf welche Weise die Vakuolmembran osmotisch aktive Stoffe in sich aufspeichere? Bekanntlich hängt der osmotische Druck ausschließlich von der Konzentration der Moleküle in der Lösung ab. Diese Konzentration kann man auf zweierlei Art erhöhen: entweder durch Zusetzen zur Lösung neuer Mengen von Molekülen oder durch Spaltung schon vorhandener komplizierter Moleküle in einfachere. Im gegebenen Falle scheint mir diese zweite Annahme die einzig mögliche zu sein. Sodann müssen wir der Membran die Funktion eines Analysators zusprechen, der die komplizierten Moleküle in einfachere spaltet und sie somit aus osmotisch unaktiven Stoffen in osmotisch aktive verwandelt. Dieser Spaltungsprozeß ist meines Erachtens die Energiequelle, auf deren Kosten die Arbeit der pulsierenden Vakuole geleistet wird.

Was die durch die Vakuole ausgeschiedenen Stoffe vorstellen, weiß *Degen* nicht. Vielleicht sind es Exkretionsprodukte oder irgendwelche andere Produkte des Stoffwechsels. Jedenfalls muß man (nach *Degen*) der Membran der pulsierenden Vakuole Sekretionsfähigkeit zuschreiben (S. 194—196).

Auch dieses Ergebnis ist für mich von außerordentlich großer Bedeutung. Wie es oben erwähnt wurde, ziehe ich in der vorliegenden Arbeit eine Parallele zwischen dem Exkretionsapparat der Protozoa und dem *Golgi*schen Apparat der Metazoa, wobei meinen Beobachtungen nach (*Nassonov* ['23]) gerade dieses Organoid mit der sekretorischen Tätigkeit der Zelle verbunden ist.

Die *Hartog-Degen*sche Theorie wurde nachträglich von *Stempell* ('14) bestätigt. Er untersuchte genau den Mechanismus der Pulsierung bei *Paramaecium caudatum* und verfertigte ein diese Tätigkeit illustrierendes Modell. Später ist diese Theorie durch die Beobachtungen anderer Protistologen bestätigt worden. So hat *M. Zuelzer* ('07) das Verschwinden der pulsierenden Vakuole bei *Amoeba verrucosa* infolge ihrer Übertragung aus Süß- in Salzwasser festgestellt, was ausgezeichnet durch den Wechsel der osmotischen Bedingungen des Mediums sich erklären läßt.

Somit gibt die auf feste konkrete Tatsachen sich stützende *Hartog-Degen*sche Theorie nicht nur eine Erklärung der Funktion der pulsierenden Vakuole, sondern zeigt uns noch die Mechanik ihrer Arbeit. Dieser Mechanismus könnte natürlich auch auf die Kontraktionsfähigkeit des Plasmas zurückgeführt werden (*Schwalbe* ['66], *Engelmann*, *Hertwig* ['23]), doch dagegen sprechen sowohl das Fehlen irgendwelcher an Mioneme erinnernden Differenzierungen in der Nachbarschaft der Vakuole, als auch das Ausbleiben einer Wirkung der anästhetischen Stoffe (*Degen* ['05], *Taylor* ['23] u. a.), welche bekanntlich die Bewegung des kontraktilen Plasmas (Wimpern, Mionemen u. a.) entweder aufhalten oder sogar vollkommen hemmen.

b. Technik und Material.

Während meiner Untersuchungen der Metazoazellen habe ich die Überzeugung gewonnen, daß die allseitige Kenntnis eines beliebigen Objektes die Anwendung von mindestens drei Methoden erfordert. Erst nach dem Vergleich der mit diesen drei Methoden erzielten Resultate kann man die Organisation der untersuchten Zelle beurteilen.

Die Arbeiten der letzten Jahre haben uns gezeigt, daß wir im Plasma ausnahmslos aller Metazoazellen zwei Gebilde antreffen, die für die Zelle ebenso obligatorisch erscheinen, wie der Kern. Dieses sind die Chondriosomen und der *Golgi*sche Apparat. Deshalb muß jeder Cytologe, der eine allseitige Vorstellung von der gegebenen Zelle gewinnen will, in erster Linie den Kern und die beiden obenerwähnten Zellbestände in Erscheinung bringen und untersuchen, was aber nur möglich wird, wenn mindestens drei verschiedene Methoden angewandt werden.

Zur Darstellung des Kernes, des Centrosoms und etwaiger übriger Zelleinschlüsse bediene ich mich für gewöhnlich eines allbekannten Sublimat-Essigsäure- oder alkoholhaltigen Fixationsmittels. Ein der-

art zusammengesetzter Fixator löst gewöhnlich die lipoiden Organoiden mehr oder weniger vollständig auf, während der Kern und das Centrosom besonders deutlich in Erscheinung treten.

Für das Studium des Chondrioms wende ich *Champys* Flüssigkeit mit nachfolgender Färbung nach *Kull* an; bei Untersuchungen des *Golgi*schen Apparates bediene ich mich der Osmierungsmethode nach *Kolatschev*, und schließlich zur gleichzeitigen Darstellung sowohl des Apparates als auch des Chondrioms osmiere ich die Objekte nach *Kolatschev* und färbe die Schnitte nach *Kull*.

Wenn ich es also mit Metazoa zu tun hatte, trat ich an das Studium eines jeden cytologischen Objektes, indem ich diese drei Grundmethoden anwende: 1. nicht mitochondriale Fixation, 2. *Champy-Kull*, 2. Osmierung nach *Kolatschev*. Ich habe mich entschlossen mit Hilfe desselben Minimums der Methoden auch an das Studium der Protozoa zu treten.

Zwecks allgemeiner Übersicht und zum Studium des Kernapparates wählte ich *Schaudinns, Zenkers, Lenhosseks* und andere Fixationsmittel; zur Darstellung der Chondriomsfixation und Behandlung nach *Champy*, Paraffineinbettung und Färbung der Schnitte nach *Kull* oder mit *Heidenhain*schem Hämatoxylin und schließlich *Kolatschev*sche Osmierungsmethode, welche bei Metazoa eine elektive Färbung des *Golgi*schen Apparates bedingt, hat mir bei Protozoa eine ausgezeichnete Imprägnierung der Membran der pulsierenden Vakuole oder ihrer zuführenden Kanäle ergeben.

Die Osmierungsmethode ist, an Metazoa angewandt, ziemlich unbeständig. Wohl bewirkt sie eine völlig elektive Imprägnierung des Apparates, doch färbt sich mitunter auch das Chondriom, so daß wir eine gemischte Imprägnierung erhalten, welche ein weniger deutliches Bild abgibt als der erste Imprägnierungstypus. Mitunter fällt das Osmium diffus im ganzen Plasma aus, ohne ein elektives Bild zu geben. In einzelnen Fällen muß man sich dem Objekte anpassen und die Bedingungen etwas variieren. Dasselbe kann man auch von der Osmierung der Protozoa aussagen. Durchaus nicht immer gelingt es sofort eine gute Imprägnierung der Vakuolenmembran zu erhalten. Bei einigen Objekten (Infusoria peritricha) geht die Reaktion schnell und elektiv vor sich; bei anderen osmierte sich außer der Membran noch das Chondriom (gemischte Imprägnation), und schließlich kann man mitunter gute Resultate bloß nach einer Modifikation der Ausgangsmethode erzielen.

Als Fixierungsmittel vor der Osmierung gebrauchte ich eines der beiden Gemische:

entweder I. 3% Kalium bichrom. . . 2 Teile
1% Acidum chrom. . . 2 „
2% Acidum osmicum . . 1 „

oder II. 6% Kalium bichrom. . . 1 Teil
1% Acidum chrom. . . 1 „
2% Acidum osmicum . . 1 „

Hatte ich es mit festsitzenden Kolonien zu tun, so trug ich sie mittels einer Pinzette oder einer Pipette unmittelbar in die Fixationsflüssigkeit hinüber, benutzte ich aber Kulturen freischwimmender Organismen, so mußte ich sie mit dem Wasser zusammen fixieren. Dabei sind zwei Vorsichtsmaßregeln einzuhalten: erstens muß beim Übertragen der Kultur in das Fixationsmittel die Flüssigkeit aus der Pipette in einem starken Strahl fließen. Auf diese Weise erzielt man eine augenblickliche Fixierung des Objektes, ohne daß das Stadium langsamen Absterbens eintritt. Zweitens hat man darauf zu achten, daß die Fixierungsflüssigkeit durch das Zugießen der Kultur nicht mehr als nur $^1/_3$ ihres Quantums verdünnt wird.

Ich hielt die Objekte 24 Stunden im Fixationsmittel, wonach ich sie einer sehr sorgfältigen Überwaschung im wiederholt gewechselten destillierten Wasser unterwarf; daraufhin wurden die Objekte in 2% Osmiumsäurelösung in eine braune Flasche mit gut schließendem Glasstöpsel übertragen. Das Fläschchen bleibt im Thermostat bei 35° C 3 bis 4 Tage stehen. Vom zweiten Tage an ist ein Kontrollieren der Intensivität der Imprägnierung vonnöten, wobei man die dem Fläschchen entnommenen Objekte im Mikroskop untersucht. Erweist sich das Objekt als zu stark imprägniert, so kann man das Objekt auf kurze Zeit in Terpentin übertragen und eine schwache Differenzierung erzielen.

Nach beendeter Imprägnierung werden die Objekte in Wasser gespült und in steigendem Alkohol gehärtet. Sind die Objekte nicht zu groß, oder liegt die pulsierende Vakuole an der Oberfläche des Tieres (Infusoria holotricha, Flagellata), so kann man sich mit Totalpräparaten begnügen, welche mitunter ausgezeichnete Bilder geben *(Paramaecium caudatum)*; sind jedoch die Objekte sehr groß und die pulsierende Vakuole von der Oberfläche weit ins Innere gerückt (Infusoria peritricha), so muß man zur Paraffineinbettung und zu Schnitten greifen.

Mit Hilfe dieser Methoden ist es mir gelungen die Membran der pulsierenden Vakuole bei folgenden Formen darzustellen:

Infusoria holotricha.

1. *Paramaecium caudatum.*
2. *Lionotus folium.*
3. *Nassula lateritia.*

Infusoria peritricha.

4. *Campanella umbellaria.*
5. *Epistylis gallea.*

6. Zoothamnium arbuscula.
7. Vorticella spec.

Flagellata.

8. Chilomonas paramaecium.

An Infusoria peritricha, *Lionotus folium* und *Nassula lateritia* erzielte ich Resultate bei Anwendung beider erwähnten Fixationsmittel, wobei das erste Verfahren ein zarteres und reineres Bild ergab, wogegen das zweite ein wahrheitsgetreueres und schnelleres Resultat hervorbrachte. Was nun *Paramaecium* und *Chilomonas* anbetrifft, so ist es mir hier gelungen eine Imprägnierung erst nach Anwendung des zweiten Fixationsmittels zu erhalten.

c. Exkretionsapparat der Infusoria peritricha.

Für das detaillierte Studium des Exkretionsapparates (pulsierende Vakuole) dieser Gruppe haben sich die Formen *Campanella umbellaria* und *Epistylis gallea* am zweckmäßigsten erwiesen. Besonders ist letztere infolge ihrer großen Durchsichtigkeit und ihrer Armut an Nahrungsvakuolen, deren Überfluß bei *Campanella umbellaria* dieses Objekt für ein Studieren der kontraktilen Vakuole in vivo gänzlich untauglich macht, für die Beobachtung in lebendem Zustande sehr geeignet. Die Imprägnierung der Membran dieses Organoids bei *Campanella umbellaria* hingegen geht außerordentlich deutlich vor sich und wir erhalten an Schnitten eine sehr reine und feine Zeichnung. Deshalb gebrauchte ich zum Beobachten in vivo hauptsächlich *Epistylis*, während mir *Campanella* als wichtigstes Osmierungsobjekt diente. Was die übrigen Formen — wie *Zoothamnium* und *Vorticella* — anbetrifft, so untersuchte ich sie bloß um meine an den zwei Hauptobjekten angestellten Beobachtungen zu bestätigen.

An allen nach obenerwähntem Verfahren osmierten *Campanella*-Präparaten, an allen durch die kontraktile Vakuole geführten Schnitten fällt uns in erster Linie der Umstand auf, daß während aller Pulsierungsstadien von der äußersten Systole an, und bis zur extremen Diastole, die pulsierende Vakuole von dem sie umgebenden Plasma stets von einem doppelt-konturierten, intensiv-schwarzen Streifen abgegrenzt ist (Abb. 1—3 und 17—22). Dies ist die wahre Vakuolenmembran, welche sich vom übrigen Plasma durch ihre Fähigkeit unter Umständen das Osmiumtetroxyd zu Metallosmium elektiv zu reduzieren, unterscheidet, eine Fähigkeit, welche auf die lipoide Natur dieses Gebildes hinweist.

An Präparaten erhalten wir die Vakuole in allen ihren Pulsierungsstadien. Während der Diastole hat sie das Aussehen eines ziemlich regelmäßigen Kreises mit ca. 15 μ Durchmesser und ist mit einer

1,5—2 μ dicken osmiophilen Haut versehen (Abb. 1 und 21). Die Membran ist vom Plasma sehr scharf getrennt und von einer ihr dicht anliegenden Schicht stark glänzender Körnchen umgeben (Abb. 1). Wie wir es weiter sehen werden, sind diese Körnchen — Chondriosomen.

Außer den Bildern voller Diastolen finden wir eine ganze Reihe Übergangsstadien zur Systole: Vakuolen mit gerunzelten, stellenweise gekrümmten Konturen (Abb. 17), Vakuolen, bei denen diese Krümmungen tiefer in den Hohlraum eindringen (Abb. 2 und 18), wobei wir an Schnitten meistens ihrer drei zählen können, so daß wir ein Dreieck mit konkaven Kanten erhalten (Abb. 18), und schließlich Vakuolen, die fast kein Lumen mehr aufweisen: die gegenüberliegenden Seiten haben sich fest aneinandergelegt und nur noch an einigen Stellen ist ein winziges Lumen zu bemerken (Abb. 19).

Man kann feststellen, daß während aller dieser Stadien die Dicke der Membran, wie es auf Abb. 18—21 zu sehen ist, bestehen bleibt, und daß die glänzende, an diese Membran anliegende Körnerschicht allen Formveränderungen der Vakuole folgt (Abb. 1 und 2).

Wenn wir nun alle diese Tatsachen zusammenstellen, so können wir eine Reihe aufeinanderfolgender Veränderungen der Vakuole während ihrer Pulsierung konstruieren und einige Schlüsse über den Mechanismus dieses Prozesses ziehen. Wie wir es weiter sehen werden, entsprechen diese Tatsachen vollkommen den Beobachtungen, welche ich an denselben Objekten in vivo gemacht habe.

Beginnen wir mit der Diastole. Die bis aufs Äußerste gefüllte Vakuole entleert sich nach außen, nimmt allmählich im Volumen ab und verschwindet schließlich vollkommen für den sie in vivo betrachtenden Beobachter. Diese allmähliche Volumenabnahme könnte man a priori auf zweierlei Art erklären: entweder ist die Membran während der Diastole stark gespannt und zieht sich beim Austreten der Flüssigkeit zusammen ohne ihre sphärische Gestalt zu verlieren — oder ist während der Systole die Volumenabnahme von der Flächenabnahme der Membran nicht begleitet, sondern geschieht ausschließlich auf Kosten ihrer Zusammenschrumpfung. Es unterliegt keinem Zweifel, daß es im gegebenen Falle auf diese Weise vor sich geht. Darauf weist sowohl die unveränderte Dicke der Membran hin, als auch ihre runzelige Kontur während der Zwischenstadien.

Für gewöhnlich wird behauptet, daß die Vakuole während der Systole gänzlich verschwindet. Dieses ist insofern richtig, als der von der Flüssigkeit ausgefüllte Raum verschwindet; die ihn umgebende Membran jedoch bleibt erhalten, büßt ihre Masse nicht ein und verändert nur ihre Gestalt. Da nun die Membran gerade — nicht aber ihr Inhalt — als Organ betrachtet werden muß, so können wir sagen, daß

das Organ selbst während aller Pulsierungsstadien erhalten bleibt, ohne sich in seiner Masse zusehends zu verändern.

Alles was in vivo beobachtet werden kann, was als pulsierende Vakuole beschrieben worden ist, stellt bloß den Inhalt des Organs dar, ist bloß das Produkt seiner Tätigkeit. Das Organ selbst hat sich bis jetzt dem Auge des Beobachters entzogen, und ist erst nach Anwendung spezieller Osmierungsmethoden in Erscheinung getreten. Somit hat man die kontraktile Vakuole — dieses periodisch verschwindende Gebilde — von dem Organ, in dessen Innern es entsteht, zu unterscheiden. In meiner weiteren Ausführung werde ich dieses Organ „Exkretionsapparat" nennen, ohne übrigens diesen Ausdruck im engen Sinne zu gebrauchen, ohne diesem Organ die Ausscheidung der Stoffwechselprodukte allein zuzuschreiben und ihm unbedingt Funktionen beizumessen, welche den Funktionen der Exkretionsorgane der Metazoa entsprechen. Wir wissen es nicht genau, was eigentlich dieses Organ ausscheidet, doch unterliegt es keinem Zweifel, daß wir es hier mit der Exkretion verschiedener in Wasser gelösten Stoffe zu tun haben, und schon von diesem Standpunkte aus können wir dieses Organ „Exkretionsapparat" nennen.

Dieser Exkretionsapparat kann nach der Osmierung aus dem ihn umgebenden Plasma leicht isoliert werden. Zu diesem Zwecke trug ich osmierte *Campanella*-Kolonien auf den Objektträger in Glyzeringelatine über und zerrieb sie vorsichtig mit dem Deckglase. Auf diese Weise verwandelte sich das ganze Tier in eine formlose Masse in welcher völlig isolierte Makronuclei und isolierte kontraktile Vakuole in ihren verschiedensten Kontraktionsstadien umherschwammen. (Abb. 10 zeigt uns eine derart isolierte Diastole, Abb. 11 eine Systole. Letztere nähert sich ihrer Form nach einem Tetraeder, was uns die an Schnitten so oft beobachtete dreikantige Form der Systole erklärt.)

Ich habe schon darauf hingewiesen, daß der Exkretionsappart während der Systole stark einschrumpft, zusammenfällt und daß die gegenüberliegenden Flächen seiner Innenwände sich fest aneinanderlegen (Abb. 19). Dennoch habe ich einen gänzlichen Schwund des Lumens nicht bemerken können. Stets bleiben geringe, voneinander getrennte Räume noch, welche mit dem Reste der Vakuolenflüssigkeit gefüllt sind. Es ist bemerkenswert, daß *Degen* auf Grund rein theoretischer Mutmaßungen die Gegenwart solcher kleiner Resträume vorausgesetzt hat, da seiner Theorie gemäß diese Tröpfchen hypertone Zentren darstellen müssen, welche die neue Diastole durch Aufnahme von Wasser aus dem sie umgebenden Plasma verwirklichen.

Meine Präparate entsprechen genau dieser Auffassung des Prozesses. An etlichen Präparaten sehen wir, wie die in den Falten des zusammengeschrumpften Exkretionsapparates steckengebliebenen Tröpfchen, all-

mählich größer werden und Gruppen von je zwei bis drei Vakuolen bilden können (Abb. 3 und 20). Bei Betrachtung in vivo sieht der Beobachter die diese Gruppe umschließende Membran nicht, und man gewinnt den Eindruck, als bildeten sich an Stelle der alten verschwundenen Vakuolen neue. Daraufhin fließen die kleinen in einer gemeinsamen Membran eingeschlossenen Vakuolen in eine große Vakuole zusammen, die Falten der Membran glätten sich und sie nimmt eine sphärische Gestalt an, so daß der ganze Apparat zu seinem Ausgangszustand — der Diastole — zurückkehrt (Abb. 21).

Bei Beobachtung in vivo kann man Augenblicke wahrnehmen, in welchen die Entleerung der Vakuole aus irgendeinem Grunde gehemmt wird. In diesem Falle vergrößert sich etwas ihr Durchmesser. An entsprechenden osmierten Präparaten ist zu sehen, daß diese — nach *Degens* Therminologie — „dilatierten" Vakuolen eine dünnere Wand haben (Abb. 22). Hier wird die Membran wahrscheinlich etwas angespannt.

Wie schon erwähnt, entsprechen die Beobachtungen in vivo vollkommen den Bildern der osmierten Präparate, wobei sich hier den Beschreibungen der Mehrzahl der modernen Forscher entgegen, mit Hilfe guter optischer Mittel recht deutlich eine homogene schwach glänzende Vakuolenmembran nicht nur während der Diastole, sondern auch während der vollkommenen Ausleerung der Vakuole, unterscheiden lassen. Diese Membran wird bei Peritricha durch die Anwesenheit einer Reihe von Chondriosomenkörnchen, welche unmittelbar an ihrer Außenwand anliegen und auch in vivo gut wahrzunehmen sind, hervorgehoben (Abb. 13—16).

Nach einer gewissen Ruheperiode wird die regelmäßig-runde Kontur plötzlich uneben (Abb. 13*a* und 14*b*), runzlig, das Lumen nimmt ab (Abb. 14*c* und 15*b* und *c*) und verschwindet (Abb. 15*d*), wobei an dieser Stelle ein, wenn auch nur schwach wahrnehmbarer von einer Aureole kleiner Körnchen umgebener Körper von unbestimmter Gestalt zu sehen ist — der zusammengefallene Exkretionsapparat (Abb. 13*b* und 15*d*). Danach treten an verschiedenen Stellen im Lumen dieses undeutlich konturierten Körpers Tröpfchen hervor (Abb. 13*b*, 14*e* und 15*e*). Sie wachsen schnell heran, fließen ineinander und bilden eine neue pulsierende Vakuole (Abb. 13*c—f*, 14*f—h*, 15*f—g*).

Eigentlich könnte man diesen Verschmelzungsprozeß der sich bildenden Vakuolen auf ein Ausglätten der Falten des zusammengeschrumpften Sackes zurückführen — an verschiedenen Stellen seiner Oberfläche sickert das Wasser in den Hohlraum durch. Doch könnte man auch annehmen, daß sich die Wände des Exkretionsapparates während der Einschrumpfung nicht nur berühren, sondern stellenweise auch ineinanderfließen und eine kompakte Masse bilden. Darauf weist unter anderem folgende öfters beobachtete Erscheinung hin: unmittelbar nach dem Ineinander-

fließen der Vakuolen bleibt ein dünner, die gegenüberliegenden Seiten vereinigender Strang nach, welcher den Rest der Querwand zwischen den sich bildenden Vakuolen darstellt (Abb. 14*b*—*g*). Möglicherweise haben sich diese Stränge an den Verschmelzungsstellen der gegenüberliegenden Wände gebildet.

Beobachtet man einige Zeit die Infusorie unter dem Deckglas, so kann man einige, durch das allmähliche Absterben des Tieres hervorgerufene Störungen im Mechanismus der Pulsierung wahrnehmen. Es treten wiederholt „dilatierte" Diastolen auf, die Ausscheidung wird sehr verzögert und geht nicht immer zu Ende. Die Beobachtungen an solchen verdorbenen Apparaten geben einige interessante Fakta. Besonders lehrreich ist das Auftreten von Nebenvakuolen, welche *Degen* bei Glaucoma beschrieben hat. Die kontraktile Vakuole beginnt sich langsam zu entleeren, aber nicht vollständig, sondern bleibt bei irgendeinem Übergangsstadium stehen (Abb. 16*a*—*b*). Zwischen der Innenwand der Vakuole und der Chondriosomenschicht, also in der von der Membran eingenommenen Zone, tritt eine Anzahl kleiner Vakuolen auf, welche größer werden und die Hauptvakuole ringartig umgeben (Abb. 16*c*). Diese Nebenvakuolen können sich mit der Hauptvakuole durch einen Riß in ihrer Wand wieder vereinigen (Abb. 16*d*—*e*). Die Nebenvakuolen entstehen stets in der Membran, was auf die Fähigkeit des lipoiden Plasmas des Exkretionsapparates hinweist, unter Umständen in seinem Innern an beliebigen Stellen hypertone Punkte entstehen zu lassen, welche von außen Wasser aufnehmen und Vakuolen bilden. Weiter werden wir sehen, daß das erste Auftreten des Sekretes im *Golgi*schen Apparat der Metazoazellen gleichfalls auf eine Vakuolisierung der lipoiden Masse des Apparates und auf ein Zusammenfließen der kleinen Vakuolen in eine große zurückgeführt werden kann (Becherzellen, sezernierende Zellen des Ductus epididymis. *Nassonov* ['24]).

Indem ich dem Schema folgte, welches ich zur Erforschung der Metazoa ausgearbeitet hatte, verfertigte und untersuchte ich nicht nur osmierte, sondern auch mit Hilfe nichtmitochondraler Methoden hergestellte Präparate und Chondriosomenpräparate. Die *Champy-Kull*sche Chondriosomentechnik ergab, an Infusoria peritricha angewandt, vorzügliche Resultate. Wie Abb. 4—5 zeigen, finden wir bei *Campanella* im ganzen Plasma eine große Menge von Chondriosomen zerstreut. Nach ihrem Aussehen und ihrem Verhalten den Farbstoffen gegenüber zu urteilen, entsprechen sie vollkommen den Chondriosomen der Metazoa und den Beschreibungen, welche *Fauré-Frémiet* von diesen Gebilden bei Protozoa gibt; vielleicht mit dem Unterschiede, daß sich an meinen Präparaten die Chondriosomen ihrer Form nach mehr einem Faden oder Stäbchen näherten, wogegen an den Abbildungen des französischen Forschers granulöse und ellipsoide Formen vorherrschen.

Die charakteristische Eigenschaft in der Anordnung der Chondriosomen bei *Campanella* besteht, wie gesagt, darin, daß sich die Chondriosomen an der Oberfläche der Membran des Exkretionsapparates ansammeln. Die Membran selbst bleibt an den nach *Kull* behandelten Präparaten mit *Altmann*schem Fuchsin ungefärbt, ist aber an Schnitten als homogener, das Lumen der Vakuole umgebender mitunter mit Thionin leicht angefärbter Saum gut sichtbar (Abb. 4 und 5). Abb. 5 stellt die pulsierende Vakuole während der Diastole dar, Abb. 4 während der Systole. In beiden Fällen legt sich an die Außenseite der Membran des Exkretionsapparats eine dichte Chondriosomenschicht ein, wobei dieselbe allen Lageänderungen der Membran folgt. Für einen Vergleich des Exkretionsapparats mit dem *Golgi*schen Apparat ist diese Tatsache von außerordentlichem Interesse. In meiner vorhergehenden Arbeit habe ich darauf hingewiesen, daß in den Metazoazellen, vorwiegend in den sezernierenden, die Chondriosomen des öfteren um den *Golgi*schen Apparat gruppiert sind, was als indirekter Beweis für ihren Anteil am Sekretionsprozeß dienen könnte.

Von den nicht mitochondralen Fixationsmitteln wandte ich *Schaudinns* Gemisch mit geringem Zusatz von Essigsäure an. Bei derartiger Fixierung hat die pulsierende Vakuole das Aussehen eines einfachen Hohlraumes im Innern des Plasmas, ohne jegliches Anzeichen einer Membran. Dieselbe wird in den Reaktiven, welche die Fixierungsflüssigkeit enthält, gelöst, was uns gleichfalls erlaubt einige Mutmaßungen bezüglich der Zusammensetzung der Membran auszusprechen, da bekanntlich gerade diese Stoffe (Essigsäure, Alkohol) die lipoiden Organellen im Plasma lösen.

Außer *Campanella* und *Epistylis* gebrauchte ich zwecks Studium der Vakuole noch *Zoothamnium* und *Vorticella*. Seiner geringen Größe wegen erwies sich ersteres Objekt bei der detaillierten Untersuchung des Exkretionsapparats als untauglich. An diesen Infusorien konnte ich meine Beobachtungen an den vorhergehenden Objekten bloß bestätigen. Zwecks Studium des Gesamtaussehens und der Lage des Apparates fertigte ich sehr dicke Schnitte an (15—20 μ), so daß an den durch die Kolonie geführten Schnitten, in jedem Exemplar der Exkretionsapparat in den mannigfaltigsten Kontraktionsstadien zu sehen war und auch seine Lage in bezug auf den Makronucleus gut bestimmt werden konnte (Abb. 6, 7 und 8).

An großen *Peritricha* ist es nicht möglich, den osmierten Exkretionsapparat in toto zu untersuchen, da derselbe zu weit von der Oberfläche ins Innere gerückt ist, doch kleinere Formen, wie z. B. *Vorticella*, lassen eine derartige Forschung zu. Abb. 9 gibt ein Totalbild einer osmierten *Vorticella* wieder. Der Exkretionsapparat liegt in der Einbuchtung des hufeisenförmigen Kernes, wobei die Membran-

falten des sich im Übergangsstadium der Pulsierung befindlichen Apparats Netzmaschen simulieren.

Untersucht man somit mit Hilfe der Osmierungsmethode den Bau des Exkretionsapparats der *Infusoria peritricha*, so gelangt man zu folgenden Ergebnissen:

1. Der Exkretionsapparat dieser Infusorien stellt ein permanentes Organ dar, welches während aller Pulsierungsstadien der Vakuole weder verschwindet noch an Masse zusehends verliert.

2. Der Apparat hat das Aussehen eines sackartigen Körpers, dessen Wände aus einem besonderen Plasma gebildet sind, welches sich seiner chemischen Zusammensetzung nach vom übrigen Zellplasma der Infusorie unterscheidet.

3. Fixationsmittel, welche die lipoiden Organellen der Zelle lösen, zerstören auch die Wände des Exkretionsapparats. Nach Fixation in mitochondralen Fixierungsmitteln bleiben seine Wände erhalten, ohne sich jedoch — gleich den Chondriosomen — elektiv mit Hämatoxylin oder *Altmann*schem Fuchsin zu färben. Bei Osmierung nach *Kopsch* oder *Kolatschev* reduzieren die Wände des Exkretionsapparats das Osmium scharf und elektiv aus OsO_4.

4. Alle die obenerwähnten Reaktionen entsprechen den Reaktionen, welche den *Golgi*schen Apparat der Metazoazellen charakterisieren, und weisen auf die Gegenwart von Lipoiden in den Wänden des Exkretionsapparates hin.

5. Der Pulsierungsprozeß der Vakuole ist auf ein Auffüllen und eine Entleerung des Exkretionsapparats zurückzuführen, wobei die Volumenabnahme des Apparats während der Entleerung auf Kosten einer Einschrumpfung seiner Wände vorsichgeht.

6. Alle obenerwähnten Tatsachen sind vorzüglich mit der *Hartog-Degen*schen Theorie in Einklang zu bringen. Das Fehlen einer Membran bei der pulsierenden Vakuole war einer der wichtigsten Einwände gegen diese Theorie. Die Anwesenheit der Membran im gegebenen Falle spricht zugunsten der *Degen*schen Annahmen; ihr lipoider Charakter harmoniert außerdem sehr gut mit der *Overton*schen Vorstellung von der Natur semipermeabler Membranen in den Zellen.

d) Exkretionsapparat bei Infusoria holotricha. (Lionotus folium und Nassula lateritia.)

Der Exkretionsapparat der ebenerwähnten *Peritricha* ist nach einem sehr einfachen Typus gebaut. Er ist nur von einem lipoiden Sack gebildet, dem wir folgende zwei Eigenschaften zuschreiben: 1. die Bedeutung einer semipermeablen Membran, 2. die Fähigkeit in seinem Innern Medien zu schaffen, welche im Vergleich zu dem sie umgebenden Plasma hyperton erscheinen. Der ganze Sack stellt sowohl den

aktiven, Stofflösungen ausscheidenden Teil des Apparats dar als auch das Reservoir, in dessen Innerem sich diese Flüssigkeiten ansammeln. Doch sind uns unter den Peritricha Fälle bekannt, wenn der Exkretionsapparat aus zwei Teilen zusammengesetzt ist: aus einem exkretorischen Teil einerseits und aus einem, die ausgeschiedene Flüssigkeit aufspeichernden Reservoir andererseits. Solch einen Apparat besitzt zum Beispiel *Carchesium*, der zum erstenmal von *Greef* 1871 beschrieben worden war. Dieser Apparat besteht aus der pulsierenden Vakuole und einem Reservoir, wohin die angesammelte Flüssigkeit ausgestoßen wird. Nach diesem Prinzip ist auch der Exkretionsapparat einiger *Vorticella* aufgebaut, wobei bei einer von ihnen — nämlich bei *Vorticella monilata* — *Bütschli* ('77) zwei pulsierende Vakuolen beschrieben hat, welche in ein gemeinsames Reservoir münden, dessen innerer Teil von einem schwammartigen Netze ausgefüllt ist.

Bei den von mir untersuchten *Infusoria holotricha* gibt es sowohl einfach gebaute Exkretionsapparate, die nur aus einem sekretorischen Teil bestehen, als auch sehr komplizierte, bei denen man an vier Abschnitte unterscheiden kann. Zur ersten Kategorie gehören *Lionotus folium* und *Nassula lateritia*, wogegen der von mir untersuchte Exkretionsapparat bei *Paramaecium caudatum* als Beispiel eines sehr kompliziert gebauten Organs dienen kann.

Der Exkretionsapparat von *Lionotus folium* osmiert sich äußerst deutlich und scharf, und man erhält dank der Durchsichtigkeit und Reinheit des Zellplasmas ein so klares Bild, daß wir keinen Grund haben zu Schnitten zu greifen. Schon bei schwacher Vergrößerung sieht man an Totalpräparaten im hinteren Ende der Infusorie einen intensiv-schwarzen Körper von verschiedener Form — je nachdem während welcheines Pulsierungsstadiums die Infusorie fixiert worden ist. An einigen Exemplaren (Abb. 25) sieht man eine große Blase, die von einer breiten Linie — dem optischen Schnitt durch die lipoide Membran — abgegrenzt ist. Dieses ist die äußerste Diastole; in diesem Stadium ist die Vakuole bei Beobachtung in vivo vorzüglich zu bemerken. Bei anderen Exemplaren ist an der gleichen Stelle ein schwarzer Körper von unbestimmter Gestalt und ohne jegliches Lumen in seinem Innern wahrzunehmen (Abb. 24) — dieses ist die Systole. In vivo ist während dieses Stadiums an entsprechender Stelle keinerlei Formgebilde zu sehen, und man gewinnt den Eindruck, als unterscheide sich die Stelle der verschwundenen Vakuole durch nichts von dem übrigen Zellplasma der Infusorie. In der Tat aber liegt hier der zusammengefallene Exkretionsapparat, der dank seinem, dem Protoplasma sehr nahen Brechungskoeffizient ohne spezielle Behandlung unsichtbar bleibt, dennoch aber auch in diesem Pulsierungsstadium vorhanden ist. An diesem Beispiel sehen wir mit besonderer Klar-

heit, wie untauglich der Ausdruck „pulsierende Vakuole" ist, da in diesem Stadium die Infusorie überhaupt keine Vakuole enthält.

Der unbedeutenden Größe dieser Infusorie wegen ist es schwer festzustellen ob der Exkretionsapparat während der Systole den Charakter eines plattgedrückten Sackes beibehält, oder in einen kompakten Körper zusammenfließt. Jedenfalls können beide Mutmaßungen ausgesprochen werden; wenn sich die letztere als richtig erweisen sollte, so wäre das Auftreten der sich bildenden Vakuolen auf eine einfache Vakuolisierung des kompakten lipoiden Körpers zurückzuführen.

Abb. 23 gibt eine Übergangsphasis von der Systole zur Diastole wieder. Hier haben wir ein Bild vor uns, welches von dem für *Peritricha* beschriebenen Pulsierungsstadium etwas abweicht. Bei letzterem behielt die runzlige Membran ihre gleichmäßige Dicke und ihre tadellos regelmäßige Doppelkontur stets bei, wogegen hier die Membran mit unregelmäßigen Verdickungen versehen ist; nicht selten dominiert die Dicke einer Seite so stark über den anderen, daß es uns scheint, als hätten wir es nicht mit einer ununterbrochenen Membran zu tun, sondern mit einer sich seitwärts an die Vakuole anlegenden Schuppe. Möglicherweise besteht der Exkretionsapparat der *Peritricha* aus einer festeren Substanz, welche die beständige Form und die Dicke der Membran unterhält; die Substanz des Exkretionsapparats bei *Lionotus* dagegen ist zäher und kann während der verschiedenen Pulsierungsstadien seine Dicke ändern, so daß wir trotz der in beiden Fällen scheinbar übereinstimmenden Einfachheit im Bau des Exkretionsapparats doch annehmen müssen, daß der Apparat bei *Peritricha* ein vollkommener gebautes Organ darstellt. Diese Überlegenheit im Bau des Apparats harmoniert vortrefflich mit unseren Kenntnissen seiner Leistungen bei Infusorien. So behauptet *Taylor* ('23) auf Grund seiner Beobachtungen und der Ergebnisse fremder Forschungen, daß vom Standpunkte der Vollendetheit und Regelmäßigkeit ihrer Leistungen die pulsierende Vakuole der *Amoeba* am niedrigsten steht, die der *Infusoria peritricha* am höchsten (S. 265). Dasselbe behauptet auch *Khainsky* ('10, S. 21).

Eine andere von mir untersuchte *Infusoria holotricha* — *Nassula lateritia* — besitzt zwei abwechselnd pulsierende Vakuolen. Während die eine derselben die Diastole erreicht, ist die andere bei Betrachtung in vivo gänzlich unsichtbar. An osmierten Präparaten sind stets beide Exkretionsapparate zugegen, doch in verschiedenen Stadien (Abb. 26).

c) Bau und Funktion des Exkretionsapparates bei Paramaecium caudatum.

Von allen Protozoen, die ich untersucht habe, besitzt *Paramaecium caudatum* den kompliziertesten Exkretionsapparat. Schon während der Beobachtung in vivo fällt uns diese Kompliziertheit auf.

Alle unsere bisherigen Kenntnisse von der Struktur und Tätigkeit dieses Organoids basieren auf ausschließlich in vivo angestellten Beobachtungen, abgesehen von den Forschungen *Khainskys* ('10), der mit Hilfe seiner neuen Methode vorzugsweise den Porus des Exkretionsapparats studiert hat.

In vivo angestellte Beobachtungen an der Tätigkeit des Apparats ergaben folgendes Bild (Textabb. 1): Nach der Entleerung und dem völligen Verschwinden der Vakuole werden in der ihr anliegenden Gegend 5—7 radial gelegene Kanäle deutlich sichtbar (*2*). Ihre, dem Zentrum zugewendeten Enden sind stark geschwollen und zwischen den Kanälen ist keine Spur von einer Verbindung zu bemerken. Die geschwollenen Enden nähern sich, fließen ineinander und bilden eine neue Vakuole, in die nun die Flüssigkeit aus den Kanälen einströmt. Danach verschwinden die Kanäle vollständig (*3*), und erst später beginnen sich an ihrer Stelle neue Kanäle zu bilden (*4*, *5*), welche nach der Entleerung und dem Schwunde der Vakuole an ihren Enden Anschwellungen entstehen lassen und auf diese Weise den Pulsierungszyklus vollenden (*6*, *1*, *2*).

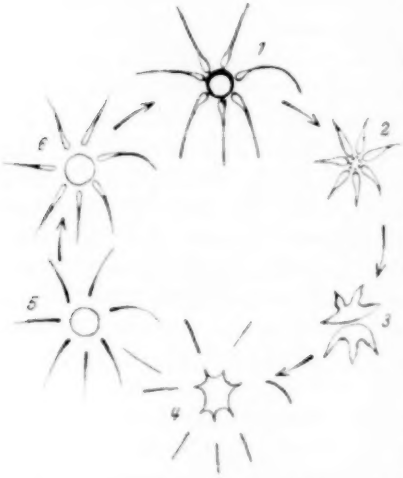


Abb. 1. Der Vorgang der Vakuolenbildung bei *Paramaecium*, in sechs Phasen dargestellt. Nach *Pütter* (1903).

Khainsky ('11), der mittels seiner neuen Methode den Bau der pulsierenden Vakuole bei *Paramaecium* sehr detailliert erforscht hat, verneint kategorisch die Gegenwart einer Membran sowohl bei der Vakuole selbst als auch bei ihren Kanälen. Auch *Stempell* ('14) — einem Anhänger der osmotischen Theorie — war es nicht gelungen in vivo eine Membran bei dem Exkretionsapparat von *Paramaecium* zu konstatieren, trotz seines Wunsches die Gegenwart derselben zu beweisen. Er läßt bloß eine um die Vakuole gelegene kompakte Protoplasmaschicht zu, welche die Rolle einer semipermeablen Membran spielen könnte. „Ob sie beim Zusammenfallen der Vakuole sich in Falten legt, oder infolge natürlicher Elastizität zusammenschnurrt" — sagt *Stempell* S. 454 — „oder endlich durch Aufhören des Flüssigkeitsdrucks überhaupt physikalisch verschwindet, darüber liegen zwar keine direkten Beobachtungen vor, doch sprechen die Tatsachen für die letztere Annahme". *Max Lühe* ('13) resümiert in seiner Mono-

graphie alles, was ihm von dem Bau der pulsierenden Vakuole bei *Paramaecium* bekannt ist, und sagt: „Jede Vakuole ist umstellt von einem Kranze von 7—10 zuführenden Kanälen, die ebensowenig wie die Vakuolen selbst eine eigene Wand besitzen, es sind vielmehr lediglich Flüssigkeitsansammlungen im Corticalplasma“ (S. 94).

Die bei *Paramaecium* angewandte Osmierungsmethode zeigt, daß diese Ansicht vollständig fehlerhaft ist. Es hat sich herausgestellt, daß *Paramaecium*, gleich übrigen Infusorien, einen permanenten, kompliziert gebauten Exkretionsapparat besitzt, der bei Beobachtung in vivo und bei Behandlung mit gewöhnlichen Methoden, dank seinem dem Plasma nahen Brechungskoeffizienten gänzlich unsichtbar ist, doch nach Bearbeitung mit Osmiumsäure sehr deutlich in Erscheinung tritt, da die Substanz, aus der er besteht, die Fähigkeit hat, Osmiumtetroxyd zu Metall-Osmium zu reduzieren.

Augenscheinlich nehmen wir in vivo nicht den ganzen Apparat wahr, sondern sehen nur die von ihm ausgeschiedene Flüssigkeit, welche teilweise die Form des Hohlraumes, in der sie ansammelt, wiedergibt.

Auch bei der Untersuchung osmierter Paramäcien ist es kaum nötig gewesen zu Schnitten zu greifen. Der Exkretionsapparat färbt sich mit Osmium äußerst scharf, und alle seine Teile liegen der Oberfläche so nahe, daß sie einer detaillierten Forschung vollkommen zugänglich sind. Nur ist es nötig die Infusorie derart zu orientieren, daß die Oberfläche, an welcher sich die Vakuole öffnet, nach oben erichtet ist, was man sehr leicht durch ein vorsichtiges Umherrücken des Deckgläschens erzielen kann. Bei solcheinem Zurechtrücken wendet man auf dem Objektträger die Infusorie um ihre Achse um.

Das Studium osmierter Totalpräparate ergibt folgende Resultate: Der Exkretionsapparat bei *Paramaecium* besteht aus einem Reservoir (der eigentlichen „pulsierenden Vakuole“ der Forscher), und aus mit ihm unmittelbar verbundenen zuführenden Kanälen (Abb. 35, 40 u. 42). Die Zahl der Kanäle schwankt zwischen 1 (bei jungen, eben erst abgeteilten Apparaten [Abb. 36]) und 11 (Abb. 40, 41). Meistenteils sind 5—7 Kanäle vorhanden. Sowohl das Reservoir als auch die Kanäle sind mit einer wahren Membran versehen, welche, in bezug ihres Verhaltens zu Reaktiven, dieselben Eigenschaften hat wie die Membransubstanz des Apparats bei *Peritricha* (Reduktion von Osmium, Lösbarkeit in Alkohol und Essigsäure, Nichtfärbbarkeit in Anilinfarbstoffen, Unsichtbarkeit im lebenden Zustande). Die Membran des Reservoirs ist äußerst dünn und geht unmittelbar in die Membran der Kanäle über (Abb. 38). Letztere ist bedeutend dicker als die des Reservoirs und erscheint an Querschnitten in Form eines scharfen schwarzen Ringes.

Jeder Kanal ist aus drei Abschnitten zusammengesetzt: aus dem „Schaltstück" (Abb. 37 *ss*), der „Ampulle" (Abb. 37 *am*) und dem „Endabschnitt" (Abb. 37 *en*). Die Schaltstücke sind meistens zusammengefallen und in vivo nicht wahrnehmbar. Sie schwellen erst dann an, wenn die Flüssigkeit aus der Ampulle in das Reservoir fließt (Abb. 38). In diesem Stadium sehen wir deutlich, daß ihre Membran die unmittelbare Fortsetzung der Reservoirmembran darstellt. Im eingefallenen Zustande sehen die Schaltstücke feinen Strängen ähnlich, welche die Ampullen mit dem Reservoir verbinden (auf Abb. 42 gut sichtbar). Den folgenden Abschnitt bilden die Ampullen („Bildungsvakuolen" der Forscher, Abb. 37 *am*). Die Membran dieser Abschnitte ist sehr ausdehnbar, denn während der Anfüllung der Kanäle mit der Flüssigkeit wird gerade sie besonders stark aufgebläht (Abb. 42). Möglicherweise kann dieses durch die Dünne der Membran dieser Abschnitte erklärt werden. Den letzten Abschnitt des Kanals endlich nenne ich den „Endabschnitt"; wie wir es weiter sehen werden, spielt er namentlich die aktive Rolle beim Einsaugen der Flüssigkeit aus dem Plasma und beim Ausscheiden osmotisch aktiver Stoffe. Die Membran dieses Abschnittes ist weniger dehnbar als die Ampullenmembran, und sein äußerster Schwanzabschnitt, dem scheinbar ein Lumen stets fehlt, trägt den Charakter eines feinen, in vivo vollständig unsichtbaren Stranges. Dieses ist wohl der Grund dafür, daß die Kanäle bedeutend kürzer bei Beobachtung in vivo als an Präparaten erscheinen.

Dem sekretorischen Endabschnitt der Kanäle ist eine äußerst interessante Besonderheit eigen. Sie werden ihrer ganzen Ausdehnung nach — den äußersten Schwanzabschnitt ausgenommen — von einem eigenartig differenzierten, leicht osmiophylen Plasma umgeben, das auf allen hier angeführten Abbildungen sehr gut zu sehen ist. Zwischen dieser Schicht und der Membran des Kanals bleibt ein schmaler Raum übrig. Diese Schicht kann man nicht zur Membran zählen, da sie den Eindruck von etwas Lockerem, nicht genügend scharf Konturiertem macht, doch ist seine Gegenwart äußerst charakteristisch, und wie wir es weiter sehen werden, umringt er den Endabschnitt nur dann, wenn dieser zu funktionieren beginnt. Ich nenne diese Schicht „osmiophyle Hülse" und nehme an, daß sie in Zusammenhang steht mit den komplizierten physikalisch-chemischen Prozessen, die sich in den Endabschnitten während ihres Funktionierens abspielen müssen.

Die zuführenden Kanäle haben, wie schon erwähnt, eine viel bedeutendere Länge als man auf Grund der Beobachtungen in vivo annimmt, und nicht selten erstrecken sie sich auf eine Fläche, welche fast die Hälfte der ganzen Oberfläche des Tieres einnimmt. Sie liegen im Ektoplasma unmittelbar unter der Pellicula, doch mitunter dringen

sie auch ins Endoplasma ein. Dieses trifft z. B. dann ein, wenn die Kanäle zweier Vakuolen einander kreuzen und die eine unter der anderen zu liegen kommt (Abb. 38), doch habe ich eine Verbindung der beiden Kanäle, wie sie *Stempell* ('14, S. 458) beschreibt, nie beobachtet.

Gehen wir nun zur Beschreibung des Reservoirs über. Seine Membran ist äußerst dünn und ausdehnbar. Im Moment der völligen Entleerung (Abb. 42) ist sie am besten zu sehen, da sie nicht ausgezogen wird; das ganze Reservoir ähnelt in diesem Stadium einem kleinen faltigen Sacke, an dessen Wand die Schaltstücke befestigt sind. Wenn das Reservoir gefüllt ist, zieht sich seine Membran so stark aus und wird so dünn, daß es sehr schwer wird zu osmieren. Das Reservoir steht in Verbindung mit der Papilla pulsatoria, kann sich aber wahrscheinlich um dieselbe wie ein Zentrum drehen, worauf die Bilder, welche auf Abb. 40 wiedergegeben sind, hindeuten. Hier haben wir ein unnormal aufgeblähtes Reservoir vor uns. Die zahlreichen, in ihm mündenden Kanäle konnten augenscheinlich dem sich ausbreitenden Reservoir nicht ausweichen, und der ganze Apparat machte eine Wendung von ungefähr 30°.

Aus dieser Beschreibung können wir ersehen, einen wie hohen Grad der Kompliziertheit der Exkretionsapparat bei *Paramaecium caudatum* erreicht. Wollen wir es versuchen, uns über die Art und Weise der Funktionierung dieses sonderbaren Organs klar zu werden. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Flüssigkeit aus dem Körper des Tieres vorwiegend von den Kanälen eingesogen wird, und zwar wahrscheinlich von ihrem Mittelstück, welches mit den dicksten lipoiden Wänden und osmophyler Hülse versehen ist. Gerade hier müssen sich die Ausscheidungsprozesse derjenigen Substanzen abspielen, die eine Erhöhung des osmotischen Druckes im Innern des Kanals hervorrufen, was seinerseits das Eindringen der Flüssigkeit aus dem den Kanal umgebenden Plasma zur Folge hat [1]). Während dieser ersten Periode ist der Kanal von dem Reservoir durch die eingefallenen Wände des Schaltstückes getrennt, und die dem Kanal zuströmende Flüssigkeit dehnt die Wände auseinander, wobei die Ampullen am stärksten aufgebläht werden (Abb. 42).

[1]) *Stempell* ('14) nimmt an, daß die die Exkretionsprodukte enthaltende Flüssigkeit in die Kanäle aus einem, den ganzen Infusorienkörper durchsetzenden System kompliziert verzweigter Hohlräume gelangt. An osmierten Präparaten, welche uns die Möglichkeit geben den Exkretionsapparat in allen seinen Details zu studieren, konnte ich keine Spur von Verzweigungen der Kanäle oder einer Verlängerung derselben im Plasma bemerken. Jeder Kanal stellt vielmehr ein geschlossenes System dar, und die Zerfallsprodukte können im Innern der Kanäle ausschließlich als Resultat einer aktiven Beteiligung ihrer Wände und des ihnen unmittelbar anliegenden Plasmas erscheinen.

Infolge des anwachsenden Druckes im Innern des Kanals schiebt die Flüssigkeit die Wände des Schaltstückes allmählich auseinander und nähert sich dem Reservoir. Bei Beobachtung dieses Prozesses in vivo scheint es, als näherten sich die aufgetriebenen Enden der völlig isolierten Kanäle einander. Endlich wird eine Verbindung zwischen der Ampulle und dem Reservoir hergestellt (Abb. 38), die ganze Flüssigkeit strömt aus dem Kanal in das Reservoir und dehnt dasselbe aus, die Kanäle jedoch fallen zusammen. Der Beobachter, welcher diesen Prozeß in vivo verfolgt, bemerkt in diesem Moment ein Ineinanderfließen der bildenen Vakuolen in eine große Vakuole und danach ein völliges Verschwinden der Kanäle. Somit stellt jeder Kanal ein kleines Pumpwerk dar, welches die Flüssigkeit in das Reservoir preßt, wobei das Schaltstück die Rolle eines Ventils spielt. Die Flüssigkeit kann aus dem Reservoir in den Kanal nicht mehr zurück, da augenscheinlich der Druck im Innern der Vakuole für ein Auseinanderrücken der Schaltstückwände nicht ausreichend ist.

Die von den Kanälen gewonnene Flüssigkeit gelangt in das Reservoir. Das Reservoir stellt lediglich einen Behälter des Sekrets, welches andere Abschnitte des Apparats gewonnen haben, dar. Da das Reservoir gleichfalls von einer semipermeablen Membran umgeben ist und eine hypertone Flüssigkeit enthält, so muß das Wasser durch seine Membran filtrieren und im Innern der Vakuole den Druck erhöhen. Dieses kann auch bei unmittelbaren Beobachtungen in vivo bewiesen werden; das Reservoir setzt auch nach der Ausscheidung des Inhalts der Kanäle sein Volumen zu vergrößern fort. Man kann der Reservoirmembran die Fähigkeit absprechen, osmotisch-aktive Stoffe zu sekretieren, doch besitzt sie zweifelsohne die Eigenschaften einer semipermeablen Membran. Das Resultat der Druckerhöhung im Innern des Reservoirs ist der Durchbruch der dünnen Pellicula der Papilla pulsatoria und die Entleerung desselben.

An nach *Champy-Kull* behandelten Präparaten tritt das Chondriom vorzüglich hervor und entspricht im großen und ganzen den Beschreibungen und Abbildungen *Fauré-Fremiets* ('10), obgleich auch hier das Chondriom an meinen Präparaten im Vergleich zu den Zeichnungen dieses Forschers mehr Stäbchen und Fäden ähnlich sieht (Abb. 41). Die pulsierende Vakuole erscheint als einfacher Hohlraum im Protoplasma, was aber die zuführenden Kanäle anbetrifft, so lassen sich ihre Wände mit *Altmann*schem Fuxin überhaupt nicht färben, und werden mit Aurancia und Thionin selten und äußerst schwach berührt. Mit anderen Worten verhält sich ihre Membransubstanz zum gegebenen Verfahren genau ebenso wie die Membran des Exkretionsapparats der *Peritricha*.

Auf dem auf Abb. 41 abgebildeten Schnitte sehen wir das Reser-

voir und einen der zuführenden Kanäle. Die Chondriosomen legen sich nicht fest an die Wände seines mittleren Abschnittes an, sondern stehen etwas ab. Beim Vergleich dieses Bildes mit osmierten Präparaten können wir uns leicht davon überzeugen, daß dieser chondriosomfreie Raum der obenerwähnten osmiophilen Hülse entspricht.

An Präparaten, welche mit den sogenannten nicht mitochondralen Fixationsmitteln behandelt worden sind, gelingt es uns nicht einmal Spuren einer Membran des Exkretionsapparats zu färben.

Wollen wir nun alle festgestellten Tatsachen über die Struktur und Funktion des Exkretionsapparats bei *Paramaecium caudatum* zusammenfassen.

1. Diese Infusorie besitzt einen permanenten, kompliziert gebauten Exkretionsapparat mit einer lipoiden Membran.

2. Diese Membran hat die Fähigkeit, Osmiumtetroxyd zu Osmium zu reduzieren; mit Hilfe von mitochondralen Farbstoffen läßt sie sich nicht färben und löst sich in Alkohol und Essigsäure.

3. Der Exkretionsapparat besteht aus einem dünnwandigen Reservoir und aus zuführenden Kanälen, bei denen wir drei Teile unterscheiden können: das Schaltstück, die Ampulle und den Endabschnitt.

4. Der Endabschnitt wird außer der Membran noch von einem eigenartig differenzierten Plasma der osmiophilen Hülse umgeben.

5. Die Tätigkeit des Apparats kann man sich auf folgende Weise vorstellen: Die Membran der Endabschnitte stellt im Innern des Kanals ein in bezug auf das Plasma hypertones Medium her, was das Eindringen des Wassers durch die Membran hervorruft. Letztere muß hier die Rolle einer semipermeablen Membran spielen. Im Innern entsteht ein gewisser Druck; dieser bewirkt das Aufblähen der Ampullen und das Auseinandergehen der Wände des Schaltstückes, welches die Funktion eines Ventils hat. Die Flüssigkeit strömt längs dem Schaltstück in das Reservoir. Hier ist der Druck nicht genügend stark, um die Flüssigkeit in den Kanal zurückzuwänden, reicht aber aus, die dünne Pellicula der „Papilla pulsatoria" zu zerreißen und das Reservoir zu entleeren. Somit kann man sich den ganzen Apparat als Pumpe, die mit zwei Ventilen versehen ist, vorstellen.

f) Entstehung und Entwicklung der Extravakuolen bei Paramaecium caudatum.

Mit Hilfe der Osmierungsmethode ist es uns gelungen zu beweisen, daß die sogenannte pulsierende Vakuole der *Paramaecium caudatum* ein permanentes, kompliziert gebautes Organ darstellt. Nun fragt es sich, auf welche Weise neue Exkretionsapparate im Infusorienkörper während der Teilung auftreten. Entstehen sie de novo oder bilden sie sich sukzessiv durch Teilung der schon vorhandenen alten Organellen.

Wir wissen, daß bei *Paramaecium* der Makro- und der Mikronucleus, Cytostom und Cytopharynx die Fähigkeit einer sukzessiven Übergabe besitzen, wobei sich die letztgenannten Gebilde während der Teilung der Infusorie durch Knospung vermehren. Also werden die wichtigsten Organellen bei *Paramaecium* durch Teilung in das neue Exemplar übertragen. Besitzt nun der Exkretionsapparat die Eigenschaft der sukzessiven Übergabe? In der vorliegenden Arbeit ist es mir nicht gelungen, diese Frage klarzulegen; doch hatte ich die Möglichkeit gehabt, die an die Teilung der Infusorien nicht gebundene Entstehung neuer Apparate zu beobachten; diese Erscheinung führt zur Bildung mehrvakuoliger Formen. In der Literatur ist mehrfach das Auftreten dieser Anomalie bei *Paramaecium caudatum* erwähnt, wobei die Bedeutung dieser Erscheinung bis jetzt noch unerklärt geblieben ist. *Hance* (47) fand bei *Paramaecium* bis sieben Vakuolen. Er hält diese Eigenschaft nur teilweise für erblich, weil die Neigung zu einer Bildung mehrvakuoliger Formen bloß in der Potenz vererbt wird. In der reinen Linie, welche aus einem mehrvakuoligen Individuum abgeleitet war, hatte nur ein Teil der Nachkommenschaft mehrere Vakuolen (61,3%). Andererseits wird nach *Hance* das Auftreten mehrerer Vakuolen von der Temperatur, der Teilungsgeschwindigkeit, vom Alter der Kultur usw. beeinflußt.

Ein anderer Autor (*Bhatia* '23), der bei *Paramaecium* drei bis fünf Vakuolen beobachtet hat, betrachtet das Erscheinen von mehreren Vakuolen als Atavismus und als Rückkehr zum Typus *Enchelys, Loxophyllum, Dileptus, Chilodon* u. a., wobei er die zuführenden Kanäle des *Paramaecium* für ineinandergeflossene Vakuolen hält.

Ich will mich nicht in die Kritik dieser theoretischen Fragen, die in keiner direkten Beziehung zu meinem Thema stehen, einlassen, und erwähne nur noch den Prozeß der Bildung der neuen Extravakuolen. Diesen Prozeß kann man vortrefflich an osmierten Präparaten verfolgen. Wie wir es gleich sehen werden, ist er auf eine äußerst eigenartige Knospung der schon vorhandenen alten Exkretionsapparte zurückzuführen.

Die ersten Anzeichen einer Teilung treten in einem der zuführenden Kanäle des Apparats auf. Die Ampulle dieses Kanals beginnt an Volumen stark zuzunehmen, so daß sie mitunter die Größe des Reservoirs erreicht. Es ist möglich, daß das Schaltstück eines solchen Kanals den Inhalt der Ampulle in das Reservoir zu befördern einstellt, oder daß es jedenfalls das Durchdringen der Flüssigkeit hindert. Derartige unnormale Anschwellungen sowohl in der Ampulle als auch im Endabschnitte, kann man auch unabhängig von der Teilung beobachten. Diese Erscheinung hat *Khainsky* ('10) bei in erhöhter Temperatur kultivierten Infusorien beschrieben, und auch ich bin mitunter auf ähnliche Bilder gestoßen (Abb. 40). Anschwellungen, welche der

Teilung vorangehen, können auf Grund folgender Merkmale erkannt werden: dicht an der vergrößerten Ampulle des Kanals tritt eine neue Anschwellung auf — die Ampulle des ersten Kanals des zukünftigen Exkretionsapparats (Abb. 35).

Der nächste Moment ist auf Abb. 36 abgebildet. Wir sehen, daß das Schaltstück, welches den Kanal mit dem Reservoir vereinigt, sich nun loslöst, so daß der Kanal völlig frei neben dem Exkretionsapparat zu liegen kommt. Fast augenblicklich erhält die Ampulle ihren eigenen Porus (Abb. 36) und beginnt wahrscheinlich von diesem Moment an wie ein Reservoir zu funktionieren. Mit anderen Worten erhalten wir einen kleinen Exkretionsapparat mit einem einzigen zuführenden Kanal (Abb. 36).

Solche Bilder treffen wir selten an, was auf die relative Geschwindigkeit des geschilderten Prozesses hinweist, doch begegnen wir an Präparaten bedeutend öfter Stadien, die ihnen unmittelbar folgen.

Beim Restaurieren seiner normalen Gestalt muß der neuentstandene Exkretionsapparat erstens die normale Zahl der zuführenden Kanäle wieder herstellen (7—9) und zweitens von dem Mutterapparat wegrücken, damit sich die zugewandten Kanäle nicht kreuzen. Andererseits ist auch der Mutterapparat gezwungen, den eingebüßten Kanal von neuem zu bilden. Auf welchem Wege geht diese Wiederherstellung vor sich?

Es stellt sich heraus, daß der neue Kanal in Form eines dünnen kompakten Fadens entsteht, der aus der Membran des Reservoirs emporwächst. Auf Abb. 36 sieht man die Entstehung zweier neuen Kanäle am Mutterapparat; auf Abb. 37 entwickelt sich ein neuer Kanal am Mutterapparat, am neugebildeten ist ein Kanal gänzlich hergestellt, während der andere sich erst in Form einer kompakten Schnur zu entwickeln beginnt. In diesem frühen Entwicklungsstadium funktioniert der Kanal noch nicht und wir können keine getrennten Abschnitte wahrnehmen. Diese Differenzierung tritt erst später ein, nachdem die Kanäle eine bestimmte Größe erreicht haben. Um den Endabschnitt erscheint die osmiophile Hülse, im Innern des Kanals wird ein Lumen sichtbar, welches sich mit Flüssigkeit füllt, es entstehen die Ampulle und das Schaltstück, und erst danach ist der Kanal fertig und kann in Funktion treten.

Während der Entstehung der neuen Kanäle am Tochterapparat entfernt sich allmählich derselbe vom Mutterapparat (Abb. 38), bis sich zwischen ihnen ein Raum bildet, der für die Ausbreitung der Kanalsysteme beider Apparate ausreichend ist. Damit ist der Entwicklungsprozeß zu Ende.

Somit sehen wir, daß der Fortpflanzungstypus des Exkretionsapparats bei *Paramaecium* auf äußerst kompliziertem Wege vorsich-

geht und eher auf eine Knospung als auf eine Teilung zurückgeführt werden muß. Wir sehen, daß ein kleines Bruchstück sich vom kompliziert gebauten Organ loslöst, und die Fähigkeit gewinnt alle fehlenden Teile zu ersetzen. Unwillkürlich drängt sich der Wunsch auf, diesen Vorgang mit den für eine Reihe Organismen beschriebenen Regenerations- und Regulationserscheinungen zu analogisieren. Im gegebenen Falle kann für diese Fortpflanzungsart eine völlig rationelle Erklärung gefunden werden. Wir gehen von der Annahme aus, daß der Exkretionsapparat der Infusorie die Rolle einer Pumpe spielt, die den Wasserüberfluß entfernt. Letzterer dringt ins Innere des Infusorienkörpers infolge der Hypertonie des Plasmas ein. Sollte dieser Apparat seine Funktion zeitweise einstellen, so müßte unbedingt die Infusorie an Überfüllung mit Wasser zugrunde gehen. Folglich muß der Exkretionsapparat in ununterbrochener Tätigkeit bleiben. Die oben geschilderte Vermehrungsart sichert eine solche Kontinuität, da der Hauptabschnitt des Apparats — das Reservoir — mit der Mehrzahl seiner Kanäle während des ganzen Teilungsvorganges intakt bleibt.

Abb. 2. *Paramaecium caudatum* mit 6 Exkretionsapparaten. (Osmiummethode, Totalpräparat.)

Nun fragt es sich: bilden sich die neuen Vakuolen während der Teilung der Infusorien genau auf dieselbe Weise wie bei der Bildung der Nebenvakuolen? Meine Präparate geben keine positive Antwort auf diese Frage. Wohl fallen größtenteils die Teilungsbilder des Apparats mit der, auf den Teilungsanfang hinweisenden, langgestreckten Form des Mikronucleus zusammen (was man auf Abb. 36 und 38 sieht), doch habe ich bis sechs Exkretionsapparate in der Infusorie, deren Kern sich in Ruhe befand, beobachten können. Dieser Fall ist auf Textabb. 2 wiedergegeben. Der hier abgebildete Mikronucleus ist kreisrund und liegt in der Einbuchtung des Makronucleus, woraus man schließen kann, daß er sich im Ruhezustand befindet, während die Gesamtansicht und die Anordnung des Exkretionsapparats, vor allem der drei mittleren, keinen Zweifel darüber lassen, daß sich diese Organellen nur eben geteilt haben. Die Exkretionsapparate verhielten sich im gegebenen Falle derart, als ob sie nichts Gemeinsames mit der Teilung des ganzen Organismus hätten. Allerdings war diese Infusorie einer Kultur entnommen, welche bei 20—25° C, also in unnormalen Bedingungen gelebt hatte, doch weist diese, wenn auch nicht ganz normale Erscheinung, auf die Fähigkeit des Exkretionsapparats hin, unter Umständen, sozusagen aus eigener Initiative, sich vermehren zu können ohne das Signal von Seiten des Mikronucleus abzuwarten.

g) Exkretionsapparat bei Chilomonas paramaecium. (Flagellata.)

Bei *Chilomonas paramaecium* ist es mir gelungen in der Gegend, wo bei Beobachtung in vivo die pulsierende Vakuole sichtbar ist, mit Hilfe der Osmierungsmethode einen Exkretionsapparat in die Erscheinung treten zu lassen, der den Infusorien gleich ist. An Präparaten sind die verschiedenen Momente seiner Tätigkeit zu sehen. Während der Diastole gleicht er einem kreisrunden Bläschen mit einer recht dicken osmiophilen Membran (Abb. 28). Während der äußersten Systole verwandelt er sich in einen kompakten Körper (Abb. 30). Während der Zwischenstadien erscheint seine Membran etwas eingeschrumpft (Abb. 29), was darauf schließen läßt, daß der Mechanismus seiner Tätigkeit mit dem der Infusorien übereinstimmt.

Außer dem Exkretionsapparat schwärzten sich bei *Chilomonas paramaecium* noch etliche Granula am Peristom (vielleicht Exkretkörner). Nach Anwendung von Essigsäure, Alkohol und sublimathaltigen Fixationsmitteln war keine Spur von einem Exkretionsapparat zu entdecken. Fixation nach *Champy* mit nachfolgender Färbung nach *Kull* ermöglichte es uns, die Anwesenheit von granulösen Chondriosomen nachzuweisen (Abb. 31), welche vorwiegend unter der Pellicula der Flagellata liegen und das Peristom umgeben, was mit den *Faurè-Fremiet*schen ('10) Beschreibungen des Chondrioms dieser Formen übereinstimmt. Mit einem Wort entspricht der Exkretionsapparat des *Chilomonas* sowohl in seinem Äußern als auch in seinem Verhalten zu den Reaktiven dem Exkretionsapparate der Infusorien. Die Tatsache nun, daß dieses Organoid auch bei *Chilomonas* dargestellt worden ist, hat für mich ein außerordentliches Interesse. In erster Linie ist damit bewiesen worden, daß ein mit lipoiden Wänden versehener Exkretionsapparat nicht nur ein spezifisches Gebilde der Infusorien darstellt, sondern auch außerhalb der Grenzen dieser Gruppe zu finden ist. Außerdem dient mir der Vergleich des Exkretionsapparats des *Chilomonas* mit dem *Golgi*schen Apparat der Choanocyten, welche *Hirschler* ('14) beschrieben hat, als wichtigstes Argument für eine Homologisierung dieser beiden Zellorganoiden.

h) Zusammenhang.

Somit hat uns die Osmierungsmethode beim Untersuchen einiger Protozoa zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. Die sogenannte pulsierende Vakuole der Protozoa stellt einen Hohlraum eines besonderen Organs dar, der allen von mir erforschten Formen eigen ist und den ich „Exkretionsapparat" nenne.

2. Die Substanz des Exkretionsapparats der Protozoa ist von dem sie umgebenden Plasma verschieden und wird durch folgende Eigen-

schaften charakterisiert: a) ihr Brechungskoeffizient nähert sich dem des Protoplasmas, deswegen ist sie bei Beobachtung in vivo nicht sichtbar; b) sie wird bei Anwendung sogenannter nicht mitochondraler Fixationsmittel zerstört; c) nach Fixierung in mitchondralen Fixationsmitteln läßt sie sich weder mit *Altmann*schem Fuxin noch mit *Heidenhain*schem Hämatoxylin elektiv färben; d) sie hat die Fähigkeit, nach entsprechender Fixation und bei andauernder Einwirkung des Omiumtetroxyds, dasselbe zu Metallosmium zu reduzieren; e) alle diese Tatsachen — besonders die letztere — zwingen uns anzunehmen, daß zum Bestand der Apparatsubstanz lipoide Komponenten gehören.

3. In morphologischer Hinsicht hat der Exkretionsapparat eine große Mannigfaltigkeit aufzuweisen. Seine einfachste Grundform entspricht einem Bläschen mit osmiophiler Membran; bei hochorganisierten Protozoa kann er eine äußerst komplizierte Gestalt annehmen, welche von der Ausgangsform — dem einfachen Bläschen — stark abweicht (*Paramaecium*).

4. Organisation und Bestand des Exkretionsapparats harmonieren ausgezeichnet mit den Grundlagen der sogenannten osmotischen Theorie vom Mechanismus der pulsierenden Vakuole, die von *Hartag*, *Degen* und *Stempell* detailliert begründet und ausgearbeitet worden ist.

5. Aus dieser Theorie müssen wir den unumgänglichen Schluß ziehen, daß die Membransubstanz des Exkretionsapparats folgende zwei Eigenschaften besitzt: die Fähigkeit, osmotisch-aktive Stoffe ins Lumen des Apparats auszuscheiden, d. h. eine Sekretionsfähigkeit, und die Eigenschaften einer semipermeablen Membran.

II. Bau und Funktion des Golgischen Apparats der Metazoazellen.

Das sogenannte „Binnennetz" ist zu gleicher Zeit sowohl von *Golgi* ('98) in den Ganglienzellen der Wirbeltiere, als auch von *Ballowitz* in den Epithelzellen der *Descemet*schen Membran des Auges entdeckt worden. Unabhängig von diesen zwei Forschern hat auch *Holmgren* ('99) mit Hilfe ganz anderer Methoden dieses Organoid in den Nervenzellen beschrieben. Seit der Zeit sind 25 Jahre verflossen, und gegenwärtig verfügen wir über eine umfangreiche Literatur, welche dieser Frage gewidmet ist.

Angefangen mit *Negri* ('01) waren die Bestrebungen aller Forscher in erster Linie darauf gerichtet, den Verbreitungsgrad dieses Organoids in den verschiedensten Gewebszellen festzustellen und seinen Bau zu ermitteln. In einer ganzen Reihe von Arbeiten haben es sowohl *Golgi* selbst und seine Schüler, als auch *Kopsch* ('02), *Bergen* ('04), *Cajal* ('15) und *Deineka* ('10) bewiesen, daß der *Golgi*sche Apparat allen Wirbeltierzellen eigen ist. Nach *Perroncitos* ('11), *Deinekas* ('10) und *Cajals*

Forschungen hat es sich herausgestellt, daß dieses Organ in den Tochterzellen nicht wieder neu hergestellt, sondern sukzessiv übertragen wird durch eine eigenartige Teilung, welche *Perroncito* „Diktyokinese" genannt hat.

Durch *Kopschs* Entdeckung der Fähigkeit des *Golgi*schen Apparats bei andauernder Einwirkung des OsO_4, das Osmiumtetroxyd zu Osmium zu reduzieren, wurde die Arbeit auf diesem Gebiete bedeutend erleichtert, da die mannigfaltigen Modifikationen der *Kopsch*'schen Osmierungsmethode (*Sjövall*, *Weigl*, *Kolatschev*) die kapriziöse und unbeständige Silbermethode *Golgi-Verattis* allmählich zu verdrängen begannen.

Sjövall ('06) untersuchte genau das Verhalten der Substanz des *Golgi*schen Apparats zu Osmiumsäure und stellte annähernd den chemischen Bestand dieses Organoids fest. Er überzeugt sich von der myologenen Natur der Substanz und von der Fähigkeit derselben im Wasser zu quellen und elektiv Osmiumtetroxyd zu Osmium zu reduzieren. Die Fähigkeit sich mit Osmium zu schwärzen hat sich als ein äußerst charakteristisches Merkmal erwiesen und kann gegenwärtig bei Beobachtung gewisser Vorsichtsmaßregeln als fast mikrochemische Reaktion beim Konstatieren dieses Zellorganoids herangezogen werden.

Was die histologische Technik anbelangt, so wurden zwei Hauptmethoden zur Darstellung des Apparats ausgearbeitet: 1. die *Kopsch*sche Osmierungsmethode (und ihre Modifikationen) und 2. die Silbermethode von *Golgi-Veratti* und *R. Cajals* Modifikation derselben. Alle Versuche, den Apparat mit Hilfe irgendwelcher Farben in die Erscheinung treten zu lassen, sind mit wenigen Ausnahmen gescheitert [1]), obgleich einige Fixationsmittel, wie z. B. die mitochondralen, den Apparat gut erhalten. Durch dieses negative Verhalten den mitochondralen Farbstoffen gegenüber, unterscheidet sich der Apparat von den Chondriosomen, mit denen er sonst viel Gemeinsames hat — vor allem hinsichtlich seiner chemischen Natur.

Was die Lösung der Frage über die Bedeutung des *Golgi*schen Apparats für das Leben der Zelle anbelangt, so ist hierüber im ersten Jahrzehnt fast nichts geleistet worden. *Golgi* selbst war äußerst vorsichtig im Anstellen von Hypothesen, was man *Ballowitz* und *Holmgren* nicht nachsagen kann. Ersterer schreibt dem Apparat die Bedeutung eines Stützgebildes für die Zentrosphäre zu, und gibt ihm den Namen „Zentrophormium". Diese Theorie hat keine Verbreitung gefunden, da es bewiesen war, daß der Apparat durchaus nicht durchweg mit den Zentren der Zelle in Verbindung steht. *Holmgren* er-

[1]) *Ballowitz* (1900) und *Fuchs* ('02) — *Heidenhain*sche Hämatoxine, *Holmgren* ('04) — Resorcin-Fuchsin, *Zawarzin* ('09) — Methylenblau und Neutralrot intra vitam.

klärt den Apparat im Sinne seiner Trophospongientheorie und hält ihn für Ausläufer der Trophocyten. Auch *Holmgrens* Ansichten fanden bei der Mehrzahl der Forscher keinen Anklang, da es bekannt wurde, daß die Maschen des Apparats in den allermeisten Fällen die Oberfläche der Zelle nicht erreichen.

Die übrigen Forscher enthielten sich einer konkreten Aussage über die Bedeutung des untersuchten Gebildes. . . . „über die intimere Natur und die Bedeutung dieses Netzes" sagt z. B. *Sjövall* ('06, S. 380) „schweben wir noch im unklaren, aber wir haben doch schon das Recht die Meinung auszusprechen, daß wir hier einer Bildung von allergrößter Bedeutung — einem allgemeinen Zellorgane — gegenüberstehen".

Somit hatte man im ersten Jahrzehnt die Überzeugung gewonnen, daß dieses Organ der Mehrzahl der Zellen eigen sei und eine wichtige Rolle im Leben der Zelle spielen müsse. In seinem Verhalten zu Reaktiven würde ihm die charakteristische Eigenschaft zugeschrieben, sich von Silber (nach *Golgi*) und Osmium (nach *Kopsch*) elektiv zu schwärzen, was aber die Struktur anbelangt, so galt ihr netzartiger Bau als charakteristisch.

Nachdem jedoch der *Golgi*sche Apparat nicht nur in den somatischen Zellen der Wirbeltiere, sondern auch in den Zellen der niederen Metazoa untersucht worden war, d. h. als man die vergleichend-cytologische Methode anzuwenden begann, zeigte es sich allmählich, daß die Netzstruktur für den *Golgi*schen Apparat durchaus nicht obligatorisch ist. So beweisen *Weigl* ('12) für die Ganglienzellen des *Helix*, *Poluszynski* ('12) in den Ganglienzellen der *Crustacea*, *Bialkowska* und *Kulikowska* ('12) in den Nervenzellen der Insekten, *Hirschler* ('13) in den Spermatocyten und Oozyten der *Ascaris lumbricoides*, Oozyten der *Ciona intestinalis* ('16) in den Embryonalzellen der *Limnaeus stanalis* ('18) und den Choanocyten der *Spongilla fluviatilis* ('14) und *Kolatschev* ('18) in den Nervenzellen der Mollusken, daß der *Golgi*sche Apparat im ganzen Plasma zerstreut ist, und den Charakter von mit Halbschatten versehenen Ringen, Häkchen und Stäbchen haben kann. Schließlich zeigen *Sjövall* (1900) in seinen Untersuchungen an der Spermatogenese der Säugetiere und *Bowen* ('22) in einer Reihe vortrefflicher Arbeiten über die Spermatogenese der Insekten, daß während eines bestimmten Entwicklungsstadiums der *Golgi*sche Apparat der Samenzellen in der Regel nicht in Form eines Netzes auftritt, sondern das Aussehen einer geschlossenen oder offenen Kapsel mit lipoiden Wänden hat.

Es haben diesem Umstand besondere Aufmerksamkeit gewidmet — *Nußbaum* ('13), der in seinem Sammelreferat den Vorschlag macht, den Ausdruck „Netzapparat" durch einen anderen neutralen — „*Golgi*-

schen Apparat" zu ersetzen, sowie *Hirschler*, der die Morphologie der Apparatelemente genau untersucht hat. *Hirschler* ('18), der die Natur dieser Gebilde während der Entwicklung der *Limnaeus stagnalis* vom Ei bis zum erwachsenen Gewebe untersucht hatte, stellte fest, daß der Apparat in der Eizelle dieses Tieres in Form im Plasma zerstreuter Schuppen und geschlossener Bläschen auftritt. Dieselben sehen im optischen Schnitt Häkchen oder Ringen ähnlich. Dieser diffuse Typus bleibt bei den Blastomeren und im Stadium der Gastrula erhalten, geht aber während des Larvenstadiums in einen komplexen Typus über. In Ganglien-, Nuchal- und Mesodermalzellen trägt er den Charakter geschlossener oder durchlöcherter Kapsel mit osmiophiler Membran, wobei jeder Zelle ein Bläschen mit lipoiden Wänden zukommt (Abb. 33 u. 34). In Epithelzellen können die Apparatelemente Gruppen bilden und sich allmählich in ein Netz verwandeln, d. h. ein Aussehen erlangen, welches für den Apparat der Wirbeltiere typisch ist. Auf diese Weise ist während der Entwicklung des *Limnaeus* die vorherrschende Form des Apparates — Schuppen oder geschlossene Bläschen mit lipoiden Wänden; die Identität dieser Gebilde mit dem *Golgi*schen Apparat wird dadurch bewiesen, daß diese Apparatelemente bei erwachsenen Geweben in charakteristische netzförmige Gebilde übergehen. *Hirschler* dehnt diese Ansicht von der Struktur des Apparats auch auf Zellen anderer Tiere aus. „Somit würde der *Golgi*sche Apparat" — sagt er — „bei mehreren Tiergruppen (Vertebraten, Mollusken, Crustaceen, Insekten, Nematoden, Tunicaten, Spongien) in einer Reihe von untersuchten Zellarten, die Form eines lamellösen Plasmakomponenten aufweisen und nicht, wie vielerseits angenommen wird, fast ausschließlich den Charakter einer Fädchenstruktur tragen" (S. 174). Was diese lamellösen Plasmakomponenten betrifft, so äußert sich *Hirschler* darüber folgendermaßen: „. . . ihnen die Form von Hohlkugeln bzw. Bläschen oder offenstehenden Schalen zukommt, wobei sie dann im ersten Falle (geschlossene Bläschen) eine gewisse Substanz in sich einschließen und sie vollkommen von dem übrigen Zellenplasma abgrenzen, während im zweiten Falle (offene Schalen) ihr Inhalt mit dem Außenplasma in Verbindung steht" (S. 175). Diesen Inhalt bezeichnet *Hirschler* als „Apparatinhalt".

Hirschler stellt sich die Frage über die Ausgangsform der Apparatkomponente, und gelangt auf Grund einer Reihe von Arbeiten (vor allem seiner Askarisarbeit, 1913) zum Ergebnis — „. . . daß auch die lipoidoferen geschlossenen Apparat-Hohlkugeln und Apparatschläuche als solche der lebenden Zelle zukommen und daß manche von ihnen, da die Diffusionsverhältnisse von Stelle zu Stelle variieren, durch das Fixierungsverfahren geändert und in offenstehende Schalen oder offene Röhrchen und rinnenförmige Gebilde verwandelt werden. Sollte es

sich bestätigen, daß Apparatsubstanz in Form von geschlossenen Hüllen in den lebenden Zellen vorhanden ist, so würde die Vermutung nahe liegen, ihr die Rolle von Isolationsmembranen zuzuschreiben, die den „Apparatinhalt" von dem übrigen Plasma gewissermaßen isolieren und somit zur Erhaltung der Heterogenität und der Organisation des ganzen Zellenplasmas beitragen" (S. 177). *Hirschlers* Ergebnisse sind für einen Vergleich des *Golgi*schen Apparats mit dem Exkretionsapparat der Protozoa von außerordentlicher Bedeutung, da der Exkretionsapparat der Protozoa — wie es im vorhergehenden Kapitel bewiesen worden ist — nichts anderes als eine „Hohlkugel" mit lipoidoferer Membran darstellt, welche den „Apparatinhalt" einschließt, wobei der osmotischen Theorie gemäß diese Membran zum Aufrechterhalten der Heterogenität zwischen dem Apparatinhalt und dem umgebenden Plasma dient. (Eine genauere Erörterung dieser Frage wird im Schlußkapitel unserer Arbeit gegeben werden.)

Ich habe schon darauf hingewiesen, daß in betreff der Lösung dieser Frage über die Bedeutung des *Golgi*schen Apparats für das Leben der Zelle überaus wenig geleistet worden ist, und wenn wir von den allein dastehenden und gegenwärtig von niemandem unterstützten Theorien *Holmgrens* und *Ballowitz* absehen wollen, so können wir keine einigermaßen ernstlich begründete Theorie von der Bedeutung dieses Organoids anführen. Fast gleichzeitig mit der Entstehung dieser Frage finden wir jedoch in der Literatur Hinweise auf jene Änderungen in der Lage und Form des *Golgi*schen Apparats, die während der verschiedensten Sekretionsstadien vorsichgehen (*Fuchs* ['02], *Cajal* ['15], *Marengi* ['03], *Kolatschev* ['16], *Deineka* ['16], *Zawarzin* ['09], *Cowdry* ['22], *Sagouchi* ['20] u. a.). Auf Grund meiner Untersuchungen, die ich an einer Reihe von Amphibien- und Säugetierdrüsen unternommen habe (Pankreas der Axolotls und der Maus, Becherzellen im Darmepithel der Tritons, Beckendrüsen der Tritons, Nebenhoden der Maus, Glandula vesicularis der Maus) erlange ich die Erkenntnis, daß dem *Golgi*schen Apparat die Rolle eines Organs zukommt, welches das von der Zelle ausgeschiedene Sekret in fertigem Zustande ausarbeitet (*Nassonov* ['23, '24]).

In den von mir untersuchten Zellen entsteht das flüssige oder kompakte Sekret im Innern der lipoidoferen Substanz des Apparats in Form von Tropfen oder winzigen Granula. Hier wächst es heran; ist das Sekret flüssig, so fließen die einzelnen Tröpfchen in einen großen Tropfen zusammen, trennen sich nach Erlangung einer gewissen Größe vom Apparat ab, gelangen in das Plasma und werden schließlich von der Zelle ausgestoßen. Demgemäß unterscheide ich im Zellinnern zwei Sekretzustände — das an den Apparat gebundene Sekret, welches sich sozusagen in statu nascendi befindet — und das

freie Sekret, welches frei im Plasma liegt und nicht in Verbindung mit dem Apparat steht.

An der Sekretion des Mausnebenhodens sieht man besonders deutlich, daß die ersten Spuren des morphologisch ausgesprochenen Sekrets nicht im bloßen Kontakt mit dem Apparat auftreten, sondern gerade in seinem Innern entstehen. An mit Osmium behandelten Präparaten kann man wahrnehmen, wie in den Zellen, welche sich anschicken zu sezernieren, eine Reihe kleiner Tröpfchen im Apparatbalken entstehen, beim Heranwachsen ineinanderfließen und den ganzen Apparat mit großen Sekrettropfen füllen. Während dieser Zeit büßt allmählich der Apparat seine Netzstruktur ein und verwandelt sich in eine sekrethaltige Kamera. „Diese Kamera ist von dem sie umgebenden Plasma vermittelst einer osmiophilen Membran abgetrennt, welche gewöhnlich an der dem Drüsenlumen zugewandten Seite geöffnet ist. Hier öffnet sich die das Sekret enthaltende Kamera in das Plasma, und an dieser Stelle tritt das Sekret aus dem Binnennetze aus" ('23) (Abb. 32). Der ganze Entstehungsvorgang des Sekretes läßt sich auf eine Vakuolisierung der lipoidoferen Apparatenmassen zurückführen, auf ein Zusammenfließen der entstandenen Vakuolen in eine große Vakuole und auf die Ausscheidung des Sekretes.

Während dieser Bildungsperiode sind die kleinen Sekrettropfen allseitig von der lipoidoferen Apparatenmasse umgeben. Um die Entwicklung und das Wachstum dieser Tröpfchen erklären zu können, muß man annehmen, daß das Wasser durch die lipoidofere Masse zum Sekret eindringt, und es ist sehr möglich, daß dieselbe als semipermeabele Membran funktioniert. Andererseits unterliegt es keinem Zweifel, daß sich während der Entstehung des Sekretes irgendwelche chemische Prozesse abspielen, die das Auftreten dieser oder jener Sekrete zur Folge haben. Infolgedessen müssen wir dem Apparate die Fähigkeit zuschreiben, chemisch auf das sich bildende Sekret einwirken zu können und die Rolle einer semipermeablen Membran zu spielen, welche das im Entstehen begriffene Sekret vom umgebenden Plasma scheidet.

Fassen wir nun alles zusammen, was uns über den *Golgi*schen Apparat der Metazoazellen bekannt ist.

1. Der *Golgi*sche Apparat ist ein äußerst verbreitetes Zellorganoid und gehört augenscheinlich, gleich dem Kern und den Chondriosomen zu den obligatorischen Zellenkomponenten der Metazoa. Er ist in allen Gewebszellen der Wirbeltiere beschrieben worden. Man hat seine Gegenwart auch in verschiedenen Zellen der Wirbellosen — Würmer, Mollusken, Insekten, Tunicaten und Spongien — konstatiert.

2. In chemischer Hinsicht unterscheidet sich die Apparatensubstanz vom übrigen Plasma durch ihre lipoidoferen Eigenschaften (wie es

Sjövall bewiesen hat). Was sein Verhalten zu Reaktiven anbetrifft, so ist er durch folgende Merkmale charakterisiert: a) er imprägniert sich mit Silber (nach *Golgi* und *Cajal*), b) er hat die Fähigkeit Osmiumtetroxyd elektiv im Osmium zu reduzieren, nachdem er mit entsprechenden Fixationsmitteln behandelt worden war (nach *Kopsch*, *Sjövall*, *Weigel*, *Kolatschev* u. a.), c) seiner chemischen Natur nach nähert er sich den Chondriosomen; gleichzeitig unterscheidet er sich von ihnen dadurch, daß er sich nach Anwendung entsprechender Fixationsflüssigkeiten mit mitochondralen Farbstoffen in der Regel nicht färben läßt, d) die Mehrzahl der sogenannten nicht mitochondralen Fixationsmittel zerstören den *Golgi*schen Apparat.

3. In morphologischer Hinsicht stellt der *Golgi*sche Apparat eine große Mannigfaltigkeit dar. Bei höheren Tieren ist er meistens streng lokalisiert und tritt in Form eines Netzes auf. In Geschlechtszellen und einigen somatischen Zellen der niederen Tiere ist es nicht lokalisiert, sondern ist in Form osmiophiler Einzelheiten im ganzen Plasma zerstreut. Wie es die Untersuchungen einer ganzen Reihe moderner Forscher — vor allem von *Hirschler* — beweisen, haben die Apparatenelemente das Aussehen kleiner Lamellen bzw. geschlossener Bläschen mit osmiophiler Wand. Es ist annehmbar, daß der diffuse und lamellösbläschenartige Apparat den primären Typus darstellt, da er bei niedrigstehenden Formen und in Geschlechtszellen vorherrschend ist. Zugunsten dieser Annahme sprechen die Beobachtungen von *Hirschler*, der es bewiesen hat, daß während der Entwicklung des *Limnaeus stagnalis* der lamellös-bläschenartige Apparatentypus nicht nur die Eizelle, sondern auch die verschiedensten embryonalen Gewebszellen charakterisiert, während der Apparat in den späteren Entwicklungsstadien eine Netzstruktur annehmen kann.

4. Auf Grund meiner Untersuchungen ('23, '24) und zahlreicher Hinweise in der Literatur muß man dem Apparate eine Sekretionsfähigkeit, im weitesten Sinne dieses Wortes, beimessen, weil in seinem Innern verschiedenartige Stoffe entstehen, welche später aus der Zelle ausgeschieden werden. Da das Sekret im Innern der Apparatensubstanz gebildet wird, so kann man letzterer zwei Eigenschaften zuschreiben: a) die Fähigkeit auf irgendeine Weise auf das sich bildende Sekret chemisch einzuwirken und b) die Eigenschaft einer semipermeablen Membran, welche den Apparateninhalt von dem umgebenden Plasma trennt und die Heterogenität des Plasmas und des im Entstehen begriffenen Sekretes aufrecht erhält.

III. Der Exkretionsapparat der Protozoa als Homologon des Golgischen Apparates der Metazoazellen.

Die Erforschung der Metazoazellen hat gezeigt, daß zum Begriff von der Zelle außer dem Kerne noch unzertrennlich die Vorstellung von zwei Gebilden gehört, nämlich von den Chondriosomen und dem *Golgi*schen Apparat. Dank den Errungenschaften der histologischen Technik und infolge der bedeutenden Beständigkeit, welche die Chondriosomen in ihrer Form, ihrem Verhalten zu den Reaktiven zeigen, bereitet uns die Darstellung und die Bestimmung dieser Gebilde gegenwärtig keinerlei Schwierigkeiten. Die Chondriosomen sind fast in allen Gruppen des Tier- und Pflanzenreiches beschrieben und von den Brüdern *Zaja* ('91), *Vignier* und *Weber* ('12) und vor allem von *Fauré-Fremiet* ('10) mit Bestimmtheit bei Protozoa konstatiert worden (Rhizopoda, Infusoria, Gregarina und Flagellata).

Die Homologie der Proto- und Metazoachondriosomen kann unstreitbar für richtig befunden werden. Wie steht es nun mit dem anderen Organoid, welches eine ebenso große Verbreitung in den Zellen der Metazoa findet, mit dem *Golgi*schen Apparat? Besitzen die Protozoa ein Homologon dieses Gebildes?

Zwecks Lösung dieser Frage begann ich ein entsprechendes Gebilde bei den Protozoa zu suchen, wobei ich mich derselben Methoden bediente, mit Hilfe derer der *Golgi*sche Apparat in den Metazoazellen dargestellt worden ist. Wie wir es oben erwähnt haben, trat bei Anwendung der Osmiummethode stets eine Schwärzung des Exkretionsapparates der Protozoa ein, wobei dieses Organoid auch in seinem Verhalten anderen Reaktiven gegenüber eine große Ähnlichkeit mit dem *Golgi*schen Apparat zeigte.

Anfangs erschien mir der Gedanke über die Möglichkeit eines Vergleiches dieser beiden Gebilde etwas paradox, da wir ja gewöhnt sind uns den *Golgi*schen Apparat in Form eines Netzes vorzustellen. Unwillkürlich assoziiert der Cytologe mit der Vorstellung vom *Golgi*schen Apparat das Bild eines komplizierten, zierlichen Netzes, welches den Kern allseitig umwickelt, so wie es *Golgi* in den Ganglienzellen der Wirbeltiere beschrieben hat. Mit der Zeit aber habe ich mich davon überzeugen können, daß der Unterschied im Bau dieser Gebilde nicht so groß ist, wenn man den Exkretionsapparat der Protozoa nicht mit dem *Golgi*schen Apparat der somatischen Zellen der Wirbeltiere, sondern mit dem der Geschlechtszellen und der somatischen Zellen der Wirbellosen vergleicht (vgl. Abb. 33 und 34 mit Abb. 28, 25 und 26). Wenn wir z. B. den von *Hirschler* beschriebenen *Golgi*schen Apparat der Choanocyten von *Spongilla fluviatilis* und den Exkretionsapparat bei *Chilomonas paramaecium* nebeneinanderstellen, so sehen wir, daß

diese beiden Zellbestände eine fast absolute Ähnlichkeit aufweisen (vgl. Abb. 27 mit Abb. 28).

Es ist der Mühe wert, sich bei diesem Vergleiche etwas länger aufzuhalten. Bekanntlich hatte die Ähnlichkeit der Choanocyten der Schwämme mit den Choanoflagellaten von jeher die Aufmerksamkeit der Gelehrten auf sich gezogen. In betreff dessen sagt *Delage* ('99): „on les a nommés les choanocytes en raison de leur ressemblance frappante avec la cellule qui forme à elle seule le corps des Choanoflagellés. Comme cette dernière, le choanocyte est formé d'un corps cellulaire ovoïde, granuleux dans le bas autour du noyan, clair au sommet du côté de la collerette, contenant un gros noyan et dont la petite extrémité distale est entourée d'un collerette protoplasmique infundibuliforme. Du sommet de la cellule, saillant à un au fond de l'entonnoir, part un long flagellum très actif" (S. 51) . . . „Les choanocytes diffèrent des Choanoflagellés par l'absence de vésicules pulsatiles. *Carter, Kent, Clark* en avaient décrit deux; mais cette assertion n'a pas été confirmée. Seul *Schultze* ('85) en a depuis observé une, mais nullment constante" (S. 52). Somit besteht der einzige Unterschied zwischen den Choanocyten und den Choanoflagellaten darin, daß die pulsierende Vakuole bei ersteren nicht beständig vorzufinden ist. Nun wissen wir aber, daß auch viele Flagellaten, vor allem die Salzwasserformen, entweder überhaupt keine pulsierende Vakuole besitzen, oder aber eine so langsam und unregelmäßig funktionierende, daß man dieselbe nur nach andauernder Beobachtung konstatieren kann (sogenannte „Pusule"). Dank der unbedeutenden Größe der Choanocyten ist es leicht möglich, daß die kontraktilen Vakuolen, besonders wenn sie langsam und unregelmäßig pulsieren, von den Forschern übersehen worden sind. Dennoch finden wir in der Literatur einige Hinweise auf die Gegenwart solcher Vakuolen.

Ich habe keine Gelegenheit gehabt, die Choanoflagellaten zu untersuchen, doch an einer anderen Flagellata, der *Chilomonas paramaecium*, ist es mir gelungen mit Hilfe der Osmiummethode eine vorzüglich ausgebildete lipoidofere Membran der pulsierenden Vakuole in Erscheinung treten zu lassen (Abb. 28, 29, 30). Die Frage über die Gegenwart derselben auch bei den Choanocyten könnte mit Anwendung derselben Methode gelöst werden. *Hirschler* ('14) wandte diese Methode bei Spongien an und fand in den Choanocyten Gebilde, die ihrer Form und ihrem Verhalten zu den Reaktiven nach dem von mir erhaltenen Exkretionsapparat des *Chilomonas* vollkommen entsprachen (vgl. Abb. 27 mit Abb. 28 und 29). „In dem sonst homogenen Plasma der Zellen" sagt *Hirschler* (S. 300) „findet man in ihren distalen Partien, aus der die Zellenkragen hervorgehen, tief geschwärzte Gebilde, die zu einem in jeder Zelle gelegen sind und keinem Elemente der Geißelkammer fehlen.

Diese Gebilde besitzen also das Vermögen Osmiumsäure zu reduzieren..., ihrer Zahl und ihrer Topographie nach ist ihr Auftreten in allen Geißelzellen gleich. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie als kreisrunde oder ovale, schwarze Ringe, unter starken Objektiven lassen sie sich als bläschen- oder kapselförmige Gebilde erkennen." Hätte ich die osmierten Präparate der Flagellaten einerseits und der Choanocyten anderseits zu Gesicht bekommen, und hätte ich von der Existenz eines *Golgi*schen Apparates nichts gewußt, so würde ich die beiden, von osmiophilen Wänden umgebenen Bläschen für ein und dasselbe Gebilde gehalten haben. *Hirschler*, der die Choanocyten ohne jegliche Voreingenommenheit untersucht hatte, kam zur Überzeugung, daß die von ihm beschriebenen Bläschen den *Golgi*schen Apparat darstellen ... „Alle vorher erwähnten Merkmale dieser Struktur, und zwar Osmiumschwärzung, Zahl und Topographiekonstanz, Anwesenheit in jeder Geißelzelle, erlaubt uns in dieser Struktur den *Golgi*schen Apparat der Geißelzellen zu erblicken. Seiner Form nach gleicht er hier den Zentralkapseln in den Geschlechtszellen verschiedener Metazoen, von denen wir wissen, daß sie uns eben den *Golgi*schen Apparat dieser Zellen darstellen. Seiner Topographie nach stimmt er fast vollkommen mit dem Apparate in den Epithelzellen der Wirbeltiere überein, in seinem Auftreten erscheint er immer als ein komplexes Ganze, nie in diffuser Verteilung. Seine Kapselgestalt wird auch durch Schnitte, die die Geißelzellen quer auf seiner Höhe getroffen haben, bewiesen, indem er auch hier in Form von Ringen, bzw. Bläschen auftritt" (S. 300).

Die besprochenen Gebilde der Choanocyten entsprechen also ihrer Morphologie und ihrer Verhaltung zu den Reaktiven, noch den modernen Vorstellungen über den *Golgi*schen Apparat der Metazoa, andererseits sind sie auch mit dem Exkretionsapparat der Flagellata vollkommen identisch. In ihrer Gestalt ist uns ein anschauliches Bild davon gegeben, worin sich der Exkretionsapparat der Protozoa bei ihrem Übergange in die Metazoa verwandeln kann.

Es entsteht die Frage, ob der Apparat der Choanocyten pulsiert. Sehr möglich, daß dieses der Fall ist, da diese Zellen die Gewebe der Schwämme nur mit basalem Ende berühren; die Seitenwände und die distalen Oberflächen werden vom Wasser umspült, so daß die Zellen fast in denselben Bedingungen sich befinden, wie die freilebenden Süßwasserprotozoa. Sie bedürfen gleichfalls eines Schutzes gegen den Wasserzufluß, also einer Einrichtung, welche der pulsierenden Vakuole der Protozoa entspricht. Es ist aber auch möglich, daß wir es hier mit einer stehengebliebenen pulsierenden Vakuole zu tun haben, demnach mit einem Gebilde, welches sich dem typischen Apparat der Metazoa nähert.

Ich habe schon eine Reihe von Beispielen angeführt, in denen sich der *Golgi*sche Apparat seiner Gestalt nach der pulsierenden Vakuole

nähert, d. h. die Form eines Bläschens mit osmiophilen Wänden annimmt. Diese Ähnlichkeit fällt z. B. beim Vergleich der von *Hirschler* beschriebenen embryonalen Zellen mit den osmierten Protozoapräparaten auf (Abb. 33 und 34). Während wir aber bei den Choanocyten die Möglichkeit einer Pulsierung zulassen können, kann hier natürlich von einer solchen keine Rede sein. Die Gewebszellen der Metazoa befinden sich in osmotischen Bedingungen, welche denen der im Meere lebenden Protozoa sehr ähnlich sind, weshalb sowohl bei diesen als auch bei jenen eine Pulsierung ausgeschlossen ist[1]).

Wir nähern uns der Frage, ob sich die Ähnlichkeit des *Golgi*schen Apparates mit dem Exkretionsapparat nur auf ihren morphologischen Bau und ihr Verhalten zu den Reaktiven beschränkt oder ob wir auch in funktioneller Hinsicht übereinstimmende Merkmale finden können. Im Kapitel über den Exkretionsapparat der Protozoa sind wir zum Ergebnis gelangt, die Membran dieses Organs müsse die Fähigkeit besitzen, irgendwelche Stoffe ins Lumen des Apparates auszuscheiden, wobei *Degen*, z. B. direkt von der „Sekretionsfähigkeit" der pulsierenden Vakuole der Protozoa spricht. Die vom Apparate verarbeiteten Stoffe werden als unnütz ausgestoßen, also folgt hier dem Sekretionsprozesse die Exkretion[2]).

Genau dieselben Funktionen werden vom *Golgi*schen Apparat der Metazoa ausgeführt. Er verarbeitet in seinem Innern verschiedenartige Stoffe — ihm kommt also gleichfalls eine „Sekretionsfähigkeit" zu —, wobei der eigentliche Prozeß der Sekretionsaufspeicherung im Innern des *Golgi*schen Apparates mitunter an den Konzentrierungsprozeß der Flüssigkeiten im Protozoaapparat erinnert. Diese Übereinstimmung fällt besonders in die Augen, wenn wir es mit flüssigem, tropfigem Sekret zu tun haben, z. B. in den Becherzellen oder in den Nebenhodenzellen der Maus (*Nassonov* ['24]). Wie schon erwähnt, ist es mir im letzteren Falle gelungen, im Innern des Apparates das Auftreten kleiner Sekrettropfen zu verfolgen (Abb. 32), welche man mit den Bildungs-

---

[1]) Im übrigen haben wir eine Beobachtung, der zufolge auch in den Zellen der Metazoa pulsierende Vakuole auftreten können. Ich meine die Arbeit von *Klemensiewicz* ('03), der das Auftreten echter pulsierender Vakuole im Plasma der Salamandraleukocyten, welche einem peritonialen Exsudat entnommen waren, beschrieben hat, sowie in den Leukocyten aus dem Blute, das sich eine Zeitlang in einer feuchten Kammer befand. Ob im gegebenen Falle das Auftreten der Vakuole mit dem *Golgi*schen Apparat in Verbindung steht, ist eine Frage der zukünftigen Erforschung.

[2]) Die Ausdrücke „Sekretion" und „Exkretion" gebrauche ich in dem Sinne, welchen ihnen eine Reihe von modernen Gelehrten — mit *Prenant* ('04, S. 479), an der Spitze — beilegt. „Sekretion" nenne ich den Ausarbeitungsprozeß des Sekretes durch die Zelle; „Exkretion" den Ausscheidungsakt der Produkte aus der Zelle.

vakuolen und ihrem Zusammenfließen in eine größere vergleichen könnte [1]).

Die von dem *Golgi*schen Apparat verarbeiteten Stoffe werden aus den Drüsenzellen exkretiert. Für die Zelle sind die Exkretionsstoffe unbrauchbar, doch für den ganzen Organismus von Nutzen.

Falls unsere Ansicht über den *Golgi*schen Apparat als ein Homologon des Exkretionsapparates der Protozoa richtig ist, so können wir uns vorstellen, daß letzterer für die Ausscheidung der unnützen Stoffe aus dem Körper des einzelligen Organismus diente und erst später der ganze Organismus der Metazoa die Ausscheidungen der einzelnen Zellen zu utilisieren begonnen hat. Auf diesem Boden hat sich die Spezialisierung der verschiedenen Sekretionszellen entwickeln können. Dieselbe bestand in der Ausarbeitung dieser oder jener nützlichen Stoffe durch den Apparat.

Auf Grund aller erwähnten Tatsachen entschließen wir uns, die Annahme auszusprechen, daß der *Golgi*sche Apparat aus dem Exkretionsapparat der Protozoa entstanden ist. Selbstverständlich kann die Gestalt des Exkretionsapparates der jetzigen Protozoa — besonders der in Süßwasser lebenden — nicht für die primäre Form gehalten werden. Man muß annehmen, daß dem gemeinsamen einzelligen Vorfahren unserer Metazoa und der gegenwärtigen Protozoa irgendein lipoidoferer Exkretionsappart eigen war, dank dessen Differenzierung der *Golgi*sche Apparat und die pulsierende Vakuole entstanden sind. Welch einen Charakter hatte dieser „Urapparat"?

Ich glaube, daß man sich der Lösung dieser Frage nähern kann, indem man mit Hilfe der Osmiummethode die marinen Protozoen erforscht, denn gerade die Salzwasserformen ist man als primäre anzunehmen berechtigt. Nun ist es aber uns bekannt, daß die Mehrzahl der Salzwasserprotozoa keine pulsierende Vakuole besitzen, oder ist dieselbe schwach entwickelt. Jedoch das Fehlen einer in vivo wahrnehmbaren Pulsierung beweist noch lange nicht das Nichtvorhandensein eines lipoidoferen Exkretionsapparates, welcher dem Apparate der Süßwasserformen entspräche. Ich bin davon überzeugt, daß die marinen Protozoen einen osmiophilen Apparat dieser oder jener Form besitzen.

Somit ist die eine Aufgabe der zukünftigen Forschung angedeutet. Die zweite nicht weniger interessante Aufgabe besteht in der Lösung

[1]) Es ist interessant, daß der Gedanke an die Möglichkeit eines Vergleiches der Sekretion der Metazoazellen mit der Ausscheidung der pulsierenden Vakuole von *Hartog* schon 1888, d. h. lange vor der Entdeckung des *Golgi*schen Apparates, ausgesprochen wurde: „It may be suggested," sagt er (S. 716), „that the perforations of the nephridial celles in Vermes and embryonic mollusks, and of the epiblastic gland-cells of Vermes and Arthropods, are due to the persistence of the contractile vacuole, the opening of which has least by other arrangements. Even the goblet-cells of mucous epithelia may possibly be traced to this origin."

der Frage: besitzen die parasitierenden Protozoa (z. B. *Opalina* oder *Sporozoa*), die keine pulsierende Vakuole haben, irgendeinen lipoidoferen Apparat, welcher dem der Süßwasserformen entspricht? Ich behaupte, daß diese Frage mit den vorhergehenden in Verbindung steht, da das Medium, in welchem die parasitischen Protozoa leben, in Hinsicht des osmotischen Druckes bis zu einem gewissen Grade dem Meerwasser ähnlich ist. Was speziell eine der Gregarinen *(Monocystis ascidiae)* anbetrifft, so finden wir in *Hirschlers* Arbeit ('14) eine Antwort auf diese Frage: „Nach 15—17tägigem Aufenthalte in 3% Osmiumsäure bekam ich," sagt er, „im Plasma der Gregarinen geschwärzte ring- und halbringförmige Gebilde zu Gesicht, die an Größe die Mitochondrien übertreffen und in spärlicher Zahl diffus im Plasma verstreut liegen . . . Angesichts der zuletzt genannten Tatsachen, angesichts ihrer Form und ihres Vermögens, Osmiumsäure zu reduzieren, würde mir der Gedanke naheliegen, diese ring- und halbringförmigen Strukturen für den *Golgi*schen Apparat der Monocystiszelle anzusehen. Nach Fixierung in *Benda*-Gemisch E. H.-Färbung konnte ich sie nicht im Plasma nachweisen" (S. 309).

Demnach fehlt die pulsierende Vakuole im Plasma derjenigen Protozoa, welche in einem Medium mit erhöhtem osmotischem Druck leben, d. h. in Bedingungen, die in dieser Hinsicht dem Medium der Gewebszellen ähnlich sind. Sie besitzen jedoch einen lipoiden Apparat, der dieselben Reaktionen aufweist, wie die Vakuolenmembran, der aber in morphologischer Hinsicht dem *Golgi*schen Apparat der Metazoazellen gleichkommt [1]).

IV. Schluß.

Somit sind wir auf Grund unserer Studien über den Bau und die Funktionen des Exkretionsapparates der Protozoa einerseits und den *Golgi*schen Apparat der Metazoa andererseits zu dem Ergebnis gelangt, daß diese zwei Gebilde einander sehr ähnlich, bzw. homolog sind. Die zugunsten dieser Annahme sprechenden Tatsachen könnte man folgendermaßen formulieren:

1. Der *Golgi*sche Apparat der Metazoa und der Exkretionsapparat der Protozoa sind in vivo unsichtbar und treten erst nach Anwendung gleicher spezieller Methoden in Erscheinung, was auf die chemische Verwandtschaft dieser Gebilde hinweist (lipoide Natur).

[1]) *Guilliermond* ('20) kommt in einer seiner letzten Arbeiten zum Ergebnis, daß wir in den pflanzlichen Zellen außer den Chondriosomen noch ihnen verwandte Elemente antreffen, welche dem Vakuolensystem den Anfang geben. Er nimmt an, daß diese Elemente dem *Golgi*schen Apparat der Tierzellen entsprechen. Selbstverständlich harmoniert diese Annahme außerordentlich mit meiner Ansicht über die pulsierende Vakuole als Homologon des *Golgi*schen Apparates.

2. Auch in morphologischer Hinsicht haben diese beiden Organoiden viel gemeinsames. Die primitive Form des Exkretionsapparates der Protozoa gleicht einem Bläschen mit osmiophilen Wänden, wobei dieses Gebilde bei hochorganisierten Protozoa *(Paramaecium)* eine kompliziertere Gestalt annehmen kann. Als die einfachste Form des *Golgi*schen Apparates muß ein Bläschen mit osmiophilen Wänden oder eine Schuppe angenommen werden (Geschlechtszellen und einige somatische Zellen der niederen Tiere), wobei diese Grundform in den somatischen Zellen der höheren Metazoa komplizierter werden und die Gestalt eines Netzes annehmen kann.

3. Die Choanocyten der Schwämme — dieser den kolonialen Protisten am nächsten stehenden Metazoa — besitzen Gebilde, welche im gleichen Maße sowohl dem *Golgi*schen Apparat der Metazoa, als auch dem Exkretionsapparat der Flagellata ähnlich sind.

4. Auch in funktioneller Hinsicht stehen diese beiden Apparate einander recht nahe. Der Exkretionsapparat der Protozoa verarbeitet in seinem Innern verschiedenartige Stoffe (sekretorische Funktion), welche aus dem Zellkörper ausgeschieden werden, wobei die lipoidofere Wand zur Isolierung dieser Stoffe während ihrer Bildung vom umgebenden Plasma dient. Der *Golgi*sche Apparat der Metazoa verarbeitet gleichfalls verschiedenartige Stoffe (sekretorische Funktion), welche aus dem Zelleib ausgeschieden werden. Es ist annehmbar, daß diese lipoidofere Masse ebenso die Rolle einer Membran spielt, welche die Heterogenität zwischen dem Plasma und dem Apparateninhalt aufrecht erhält.

Petrograd, November 1923.

Literaturverzeichnis.

Ballowitz, E. 1898. Demonstrationsbericht. Verhandl. d. anat. Ges. Kiel. — Derselbe. 1900. Über das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und eine merkwürdige Struktur seiner großen Zellsphäre. Arch. f. mikroskop. Anat. 56. — Derselbe. 1900. Eine Bemerkung zu dem von *Golgi* und seinen Schülern beschriebenen „Apparato reticolare interno" der Ganglien und Drüsenzellen. Anat. Anz. 18. — *Bhatia, B. L.*, On the significance of extra contractile vacuoles in *Param. caud.* Journ. Roy. Micr. Soc. 1923. — *Bergen, F. v.* 1904. Zur Kenntnis gewisser Strukturbilder (Netzapparate, Saftkanälchen, Trofospongien) im Protoplasma verschiedener Zellarten. Arch. f. mikr. Anat. 64. — *Bialkowska, W.* und *Kulikowska, Z.* 1912. Über den feineren Bau der Nervenzellen bei verschiedenen Insekten. Bull. Acad. Sc. Cracovie. — *Bowen, H. R.* 1922. Studies on Insect Spermatogenesis. Journ. of morphol. 37, Nr. 1. — Derselbe. 1922. Studies on Insect Spermatogenesis. On the Formation of the Sperm in Lepidoptera. Quart. Journ. of microsc. Sc. 66, Part. IV. — *Bütschli, O.* 1877. Über den *Dendrocometes paradoxus* Stam., nebst einigen Bemerkungen über *Spirochona gemmipara* und die kontraktilen Vakuolen der Vorticellen. Zeitschr. f. wiss. Zool. 28, Heft I/II. — Derselbe. 1887—1889. Bronns Klassen und Ord-

nungen des Tierreiches. Protozoa. — *Cajal, R.* 1915. Algunas variaciones fisiologicas y patologicas del aparato reticular de Golgi. Trab. del Lab. d. Inv. d. Madrid, **12**, fasc. 2°. — *Claparède, Ed.* 1854. Über Actinophris Eichhornii. Arch. f. Anat., Phys. und wiss. Mediz. — *Cowdry, E. V.* 1922. The reticular Material as an Indicator of physiologic Reversal in Secretory Polarity in the Thyroid cells of the Guinea-Pig. The Americ. Journ. of Anat. **30**, Nr. 1. — *Degen, A.* 1905. Untersuchungen über die kontraktile Vakuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas. Botan. Zeitung Jahrg. 63, Heft I/II. — *Deineka, D.* 1910. Der Netzapparat von Golgi in einigen Epithel- und Bindegewebszellen während der Ruhe und der Teilung derselben. Anat. Anz. **41**. — Derselbe. 1916. Développement des cellules osseuses dans le processus enchondral. Arch. Russes d'Anat., d'Histol. et d'Embryol. **1**, Fasc. 2. — *Delage, Y.* et *Hérouard, E.* 1899. Traité de Zoologie concrète. Mésozoaires-Spongiaires **2.**, 1re partie. — *Dujardin, F.* 1838. Mémoires sur l'organisations des infusoires. Ann. des Sc. Nat. **10**. — *Ehrenberg, C. G.* 1838. Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. (Leipzig.) — *Fauré-Frémiet, E.* 1910. Étude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. Arch. d'Anat. micr. **11**. *Fuchs, H.* 1902. Über das Epithel im Nebenhoden der Maus. Anat. Hefte **19**. — *Golgi, C.* 1898. Sur la structure des cellules nerveuses. Arch. ital. de biol. **30**. — Derselbe. 1909. Sur une fine particularité de structure de l'epithélium de la muquose gastrique et intestinale de quelques vertébrés. Ebenda. **51**. — *Griffith, A. B.* 1889. A Method of Demonstrating the Presence of Uric Acid in the Contractile Vacuoles of some Lower Organisms. Proc. of the roy. soc. of Edinburgh. **16**. — *Gruber.* 1889. Biologische Studien an Protozoen. Biol. Zentralbl. **9**. — *Guilliermond, A.* 1920. Les constituants morphologiques du cytoplasme d'après les recherches récentes de cytologie végétale. Bull. biol. de la France et de la Belg. **54**. — *Hance, R. T.* 1917. Studies on a Race of *Paramaecium*, possessing Extracontractile Vacuoles. Journ. of exp. zool. **23**. — *Hartog, M.* 1888. Preliminary Note on the Functions Homologies of the Contractile Vacuole in Plants and Animals. Rep. of the Br. Ass. for the Adv. of Science. — *Hirschler, J.* 1913. Über die Plasmastrukturen (Mitochondrien, Golgischer Apparat u. a.) in den Geschlechtszellen für Ascariden (Spermato- und Ovogenese). Arch. f. Zellforsch. **9**, Heft 3. — Derselbe. 1914. Über Plasmastrukturen (Golgischer Apparat, Mitochondrien u. a.) in den Tunicaten-, Spongien- und Protozoenzellen. Anat. Anz. **47**. — Derselbe. 1916. Über die Plasmakomponenten (Golgischer Apparat, Mitochondrien u. a.) der weiblichen Geschlechtszellen (cytologische Untersuchungen am Ascaris-Ovarium). Arch. f. mikroskop. Anat., Abt. II. **89**. — Derselbe. 1918. Über den Golgischen Apparat embryonaler Zellen. Untersuchungen an Embryonen von *Limnaeus stagnalis* L. Mollusca. Ebenda. **91**. — *Holmgren, E.* 1899. Zur Kenntnis der Spinalganglienzellen des Kaninchens und des Frosches. Anat. Anz. **16**. — Derselbe. 1904. Beiträge zur Morphologie der Zelle. Anat. Hefte, **25**. — *Khainsky, A.* 1910. Zur Morphologie und Physiologie einiger Infusorien. (*Paramaecium caudatum*) auf Grund einer neuen histologischen Methode. Arch. f. Protistenkunde **21**, Heft 1. — *Klemensiewicz, R.* 1903. Über Amitose und Mitose. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Path. **33**. — *Kolatchev, A.* 1916. Recherches cytologiques sur les cellules nerveuses des Mollusques. Arch. Russes d'Anat., d'Histol. et d'Embr. **1**, Fasc. 2. — *Kopsch, F.* 1902. Die Darstellung des Binnennetzes in spinalen Ganglienzellen und anderen Körperzellen mittels Osmiumsäure. Sitzungsber. d. preuß. Akad. d. Wiss., phys.-math. Klasse. **40**. — *Lachmann, C. F. J.* 1859. Über einige neuentdeckte Infusorien und über kontraktile Blasen bei den Infusorien. Verhandl. des naturhistor. Vereins d. preuß. Rheinl. **16**. — *Lankester, E. Ray.* 1909. A treatise an Zoology Part I, Fasc. 1. — *Lieberkühn, N.* 1856. Beiträge zur Anatomie der Infusorien. Arch f. Anat. u. Physiol.

— *Lühe, Max.* 1913. Langs Handbuch der Morphologie der wirbellosen Tiere. 1. Protozoa. — *Marenghi, G.* 1903. Alcune particolarità di struttura e di innervazione della cute del l'ammocœtes branchialis. Mém. R. It. Lomb. — *Maupas, E.* 1883. Contributions à l'étude morphologique et anatomique des infusoires ciliés. Arch. de zool. exp. et gén. 1, Ser. 2. — *Meyen, J.* 1839. Einige Bemerkungen über den Verdauungsapparat der Infusorien. Arch. f. Anat. u. Physiol. — *Nassonov, D. N.* 1923. Das Golgische Binnennetz und seine Beziehungen zu der Sekretion. Untersuchungen über einige Amphibiendrüsen. Arch. f. mikroskop. Anat. 97, Heft 1/2. — Derselbe. 1924. Das Golgische Binnennetz und seine Beziehungen zu der Sekretion. (Fortsetz.) Morphologische und experimentelle Untersuchungen an einigen Säugetierdrüsen. Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. 100. — *Negri, A.* 1900. Über die feinere Struktur der Zellen mancher Drüsen bei den Säugetieren. Verhandl. d. anat. Ges. Pavia. — *Nusbaum, J.* 1913. Über den sogenannten inneren Golgischen Netzapparat und sein Verhältnis zu den Mitochondrien, Chromidien und anderen Zellstrukturen im Tierreich. Zusammenfassendes Referat. Arch. f. Zellforsch. 10. — *Perroncito, A.* 1911. Beiträge zur Biologie der Zelle (Mitochondrien, Chromidien, Golgisches Binnennetz in den Samenzellen). Arch. f. mikroskop. Anat. 77. — *Perty, M.* 1852. Zur Kenntnis kleinster Lebensformen. Bern. — *Poluszynski, G.* 1911. Untersuchungen über den Golgi-Kopschschen Apparat und einige andere Strukturen in den Ganglienzellen der Crustaceen. Bull. Acad. Sc. Cracovie. — *Prenant, A., Boin, P.* et *Maillard, L.* 1904. Traité d'histologie. 1. Paris. — *Pritchard, A.* 1861. A history of the Infusoria. — *Pütter, A.* 1904. Die Reizbeantwortung der ciliaten Infusorien. Zeitschr. f. allgem. Physiol. 3, Heft 1. — *Rhumbler, L.* 1892. Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zellen. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. 7. — *Rossbach.* 1874. Die rhythmischen Bewegungserscheinungen der einfachsten Organismen und ihr Verhalten gegen physikalische Agentien und Ätzmittel. Arb. a. d. Zool.-Zootom. Inst. in Würzburg. 1. — *Sagouchi, S.* 1920. Studies on the glandular cells of the Frog's pancreas. Americ. journ. of anat. 26, Nr. 3. — *Schewiakoff, W.* 1896. Die Organisation und das System der Infusoria Aspirotricha. Mém. de l'acad. Imp. d. Sc. d. St.-Petersb. 4, Nr. 1. — *Schmidt, O.* 1894. Einige neue Beobachtungen über die Infusorien. Frorieps Notizen für Natur- und Heilkunde. III. Reihe, 9. — *Siebold, C.* and *Stannius, H.* 1854. Comparative Anatomy. — *Sjövall, E.* 1906. Über Spinalganglienzellen und Markscheiden. Zugleich ein Versuch, die Wirkungsweise der Osmiumsäure zu analysieren. Anat. Hefte 30, Heft 2. — *Spallanzani, L.* 1776. Saggio di asservazione microscopiche concernenti il sistema della generazione dei Signori *Neidham* e *Buffon.* Modena. — *Stein, F.* 1859. Der Organismus der Infusionstiere usw. — *Stempell, W.* 1914. Über Funktion der pulsierenden Vakuole und einen Apparat zur Demonstration derselben. Zool. Jahrb., Abt. f. allg. Zool. u. Physiol. d. Tiere 34, Heft 3. — *Taylor, C. V.* 1923. The contractile vacuole in Euplotes: an exemple of the sol-gel reversibility of cytoplasm. Journ. of exp. zool. 37, Nr. 3. — *Vignier, G.* et *Weber, A.* 1912. Les formations chromidiales et mitochondriales de l'Haemogregarina sergentium Nicolle, chez le Gongylus ocellatus. Compt. rend. d. la soc. d. biol. d. Paris. 73. — *Weigl, R.* 1912. Vergleichend-cytologische Untersuchungen über den Golgi-Kopschschen Apparat und dessen Verhältnis zu anderen Strukturen in den somatischen und Geschlechtszellen verschiedener Tiere. Bull. acad. Sc. Cracovie. — *Wrzésniowski, A.* 1869. Ein Beitrag zur Anatomie der Infusorien. Arch. f. mikroskop. Anat. 5. — *Zawarzin, Alexius.* 1909. Beobachtungen an dem Epithel der Descemetschen Membran. Arch f. mikroskop. Anat. 74. — *Zenker, W.* 1866. Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien. Ebenda. 2. — *Zoja, L.* e *R.* 1891. Intorno ai plastiduli fuscinofili (bioblasti dell' Altmann). Mem. d. R.

Ist. Lomb. di Sc. e Lett. 16. — *Zuelzer, M.* 1907. Über den Einfluß des Meereswassers auf die pulsierende Vakuole. Sitzungsber. d. Ges. naturforsch. Freunde, Berlin.

Erklärung der Abbildungen.

a. Ampulle,
en. Endabschnitt,
ex. Exkretionsapparat,
ma. Makronucleus,
mi. Mikronucleus,
nv. Nahrungsvakuole,
p. Peristom,
r. Reservoir,
ss. Schaltstück.

Tafel I.

Abb. 1, 2, 3, 9 und 12 sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat bei Vergrößerung: Zeiss' Apochrom. 3 mm, Komp.-Ok. 4, Tubuslänge 160 mm entworfen worden. Niveau des Arbeitstisches.

Abb. 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 und 11 — entworfen mit dem Abbeschen Zeichenapparat bei Vergrößerung: Zeiss' Appochrom. homog. Immers. 1,5 mm, Komp.-Ok. 4, Tubuslänge 160 mm. Niveau des Arbeitstisches.

Abb. 1. *Campanella umbellaria.* Diastole des Exkretionsapparates. Osmiummethode. Paraffinschnitt.

Abb. 2. *Campanella umbellaria.* Systole des Exkretionsapparates. Dieselbe Methode.

Abb. 3. *Campanella umbellaria.* Erstes Auftreten der sogenannten „Bildungsvakuolen". Dieselbe Methode.

Abb. 4. *Campanella umbellaria.* Systole des Exkretionsapparats. Die Chondriosomen haben von *Altmann*schem Fuchsin eine intensiv rote Farbe angenommen. Die Apparatenmembran ist sehr schwach mit Thionin gefärbt. Champy, Kull, Paraffinschnitt.

Abb. 5. *Campanella umbellaria.* Diastole des Exkretionsapparats. Dieselbe Methode.

Abb. 6. *Zoothamnium arbuscula.* Systole des Exkretionsapparats. Osmiummethode, Paraffinschnitt.

Abb. 7. *Zoothamnium arbuscula.* Diastole des Exkretionsapparats. Dieselbe Methode.

Abb. 8. *Zoothamnium arbuscula.* Zwischenstadium der Pulsierung des Exkretionsapparats.

Abb. 9. *Vorticella spec.* Der Exkretionsapparat während eines Zwischenstadiums der Pulsierung. Die Membranfalten des Apparats simulieren Netzbalken. Osmiummethode, Totalpräparat.

Abb. 10. Ein isolierter, von Osmium geschwärzter Exkretionsapparat der *Campanella umbellaria* während der Diastole.

Abb. 11. Ein isolierter, vom Osmium geschwärzter Exkretionsapparat der *Campanella umbellaria* während der Systole.

Abb. 12. *Epistylis gallea.* Exkretionsapparat während der Diastole. Osmiummethode. Paraffinschnitt.

Tafel II.

Abb. 13—16. Pulsierungsstadien des Exkretionsapparats bei *Epistylis gallea*, gezeichnet in vivo mit dem Abbeschen Zeichenapparat bei Vergrößerung: Zeiss' Apochrom. 3 mm, Komp.-Ok. 4, Tubuslänge 160 mm, Niveau des Arbeitstisches. Eine, von den Konturen der Vakuole abstehende Körnerreihe — mit der Appa-

ratenmembran verbundene Chondriosomenschicht. Der Abstand zwischen der Kontur der Vakuole und dieser Schicht entspricht der Membran des Exkretionsapparats.

Abb. 13. *a* Anfang der Entleerung des Apparats. Einschrumpfung der Membran. *b* Systole: eingeschrumpfter entleerter Apparat. An einigen Stellen sind kleine Tröpfchen seines Inhalts noch geblieben. *c* In der gemeinsamen Apparatenwand beginnen Bildungsvakuolen zu entstehen. *d*, *e*, *f* Ineinanderfließen der Bildungsvakuolen, Wiederherstellung der Diastole.

Abb. 14. *a*, *b*, *c*, *d* Entleerungsstadien des Exkretionsapparats. *e*, *f*, *g*, *h* Auftreten und Zusammenfließen der Bildungsvakuolen in einer gemeinsamen Membran des Exkretionsapparats.

Abb. 15. *a* Diastole. *b*, *c* Entleerungsstadien. *d* Systole. *e*, *f*, *g*, *h* Wiederherstellung der Diastole. *i* Unnormale Volumenvergrößerung (Dilatation) des Exkretionsapparats, begleitet von einer Verdünnung seiner Wände (entspricht Abb. 22).

Abb. 16. Unnormaler Pulsierungstypus. Die Infusorie befand sich längere Zeit unter dem Deckgläschen. *a* Diastole. *b* Anfang der Entleerung. *c* Die Entleerung ist nicht zu Ende gelangt. Vakuolisierung der lipoiden Apparatenmembran. *d* Zusammenfließen des in der Apparatenwand entstandenen Vakuolen mit der Hauptvakuole. *e* Wiederherstellung der Diastole.

Abb. 17—22. Aufeinanderfolgende Pulsierungsstadien des Exkretionsapparats bei *Campanella umbellaria*. Osmiummethode, Paraffinschnitte.

Abb. 17. Beginn der Einschrumpfung der Membran.

Abb. 18. Zwischenstadium der Entleerung.

Abb. 19 Systole. An einigen Stellen des eingeschrumpften Exkretionsapparats sind kleine Räume nachgeblieben, welche Flüssigkeit enthalten.

Abb. 20. Auftreten von Bildungsvakuolen in der gemeinsamen lipoidoferen Membran.

Abb. 21. Diastole des Exkretionsapparats.

Abb. 22. Dilatierter Exkretionsapparat. Die lipoidofere Membran ist aufgespannt und dünner geworden.

Abb. 23—25. *Lionotus folium*. Osmiummethode, Totalpräparate. Vergrößerung: Zeiss' homog. Immers. Apochrom. 1,5 mm, Komp.-Ok. 4. Tubuslänge 160 mm. Zeichenapparat Abbe. Niveau des Arbeitstisches.

Abb. 23. Zwischenstadium der Pulsierung des Exkretionsapparats.

Abb. 24. Systole.

Abb. 25. Diastole.

Abb. 26. *Nassula lateritia*. Oberer Apparat während der Diastole; unterer während der Systole. Dieselbe Vergrößerung und Technik.

Abb. 27. Geißelepithel von *Spongilla fluviatilis* mit geschwärztem *Golgi*schem Apparat (*Kopsch*sche Methode). Nach *J. Hirschler*, 1914.

Abb. 28, 29, 30. *Chilomonas paramaecium*. Osmiummethode, Totalpräparate. Vergrößerung wie auf Abb. 23.

Abb. 28. Diastole des Exkretionsapparats.

Abb. 29. Zwischenstadium der Pulsierung des Exkretionsapparats.

Abb. 30. Systole des Exkretionsapparats.

Abb. 31. *Chilomonas paramaecium*. Chondriom. Champy, Kull, Paraffinschnitt.

Abb. 32. Sezernierende Epithelzellen des Nebenhodens der Maus. Der *Golgi*sche Apparat exkretiert das von ihm ausgearbeitete Sekret. (*Nassonov* 1924, dieses Archiv Bd. 100.)

Abb. 33. *Limnaeus stagnalis.* Larvenstadium, Mesodermzellen aus der Fußanlage. Nach *J. Hirschler* 1918, Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 91. Abb. 18.

Abb. 34. *Limnaeus stagnalis.* Larvenstadium, Nuchalzellen. Nach *J. Hirschler* 1918, Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 91. Abb. 16.

Tafel III.

Abb. 35, 36, 37, 38, 40 und 42. Exkretionsapparat von *Paramaecium caudatum.* Osmiummethode, Totalpräparate. Vergrößerung: Zeiss' Apochrom. homog. Immers. 1,5 mm, Komp.-Ok. 4. Tubuslänge 160 mm. Niveau des Arbeitstisches. Abb. 39 Dasselbe Objekt und dieselbe Methode. Vergrößerung: Zeiss' Apochrom. 3 mm, Komp.-Ok. 4. Tubuslänge 160 mm. Niveau des Arbeitstisches.

Abb. 35. Anfangstadium der Knospung des Exkretionsapparats. Die Ampulle des unteren rechten Kanals ist stark aufgebläht. Längs dem Kanal ist eine neue kleine Ampulle des zukünftigen ersten Kanals des Tochterapparats angedeutet.

Abb. 36. Tochterapparat, der sich eben abgeteilt hat, mit einem zuführenden Kanal.

Abb. 37. Späteres Knospungsstadium des Exkretionsapparats. Am Tochterapparat hat sich der zweite Kanal vollkommen ausgebildet; der dritte ist in Form einer kompakten Schnur im Werden begriffen.

Abb. 38. Der Tochterapparat hat drei vollkommen entwickelte Kanäle; der vierte ist im Werden begriffen.

Abb. 39. Gesamtansicht des Totalpräparates des *Paramaecium caudatum* mit osmierten Exkretionsapparaten.

Abb. 40. Diastole des Exkretionsapparats. Die stark ausgedehnte Membran ist sehr schwach osmiert.

Abb. 41. Chondriom des *Paramaecium caudatum.* Technik: Champy, Kull, Paraffinschnitt.

Abb. 42. Systole des Exkretionsapparats. Im Zentrum sieht man die zusammengeschrumpfte Membran des entleerten Reservoirs, mit der die zuführenden Kanäle durch die Schaltstücke verbunden sind.

(4. Mitteilung aus dem histologischen Institute der Universität Simferopol.)

Untersuchungen über mitogenetische Strahlen.

Von

Dr. Lydia Gurwitsch.

Prosektor am Institute.

(Mit einem Beitrag von **Nina Gurwitsch.**)

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 28. April 1924.)

1. Kapitel.

Über den Leitungsvorgang der Strahlung durch lebendes Gewebe.

Nachdem von Prof. *Gurwitsch* der Nachweis einer spezifischen Ausstrahlung aus Wurzelspitzen und Cotyledonen erbracht wurde, erscheint es natürlich von größter Wichtigkeit, einen Aufschluß über den Entstehungsort und Quelle derselben zu erlangen. Zwei Möglichkeiten sind hier denkbar: 1. Das ausstrahlende Gewebe, namentlich die in lebhafter Mitose begriffenen Wurzelspitzen sind zugleich auch der Ort des Entstehens der Strahlungsenergie, die von einer Zelle auf die benachbarte übertragen wird, um schließlich von der freien Oberfläche des betreffenden Organs in das umgebende Außenmedium zu gelangen, oder 2. Das Wurzel- bzw. Cotyledonengewebe sind nur rein passive Leitungsmedien für die Strahlung, die aus speziellen, mehr weniger lokalisierten und abgegrenzten Strahlungs*zentren* stammt.

Es war der Gedanke naheliegend, zur Entscheidung der Frage das ausstrahlende Gewebe, zunächst Wurzeln, einer Narkose zu unterwerfen, die ja auch im Problem der Nervenleitung so aufklärend wirkte.

Über Narkose von Zwiebelwurzeln lag uns eine gründliche (nicht publizierte) Untersuchung aus dem hiesigen Laboratorium von *Nina Gurwitsch* vor, deren wesentlichste Ergebnisse hier kurz mitgeteilt werden mögen.

Die Wurzeln vertragen gut eine 0,5%ige Chloralhydratnarkose, die bis auf 24 Stunden währen darf. Der Zustand bleibt noch immer, trotz tiefgehender morphologischer Veränderungen und völligen Wachstumsstillstandes vollständig reversibel, wenn auch die Erholungsdauer eine entsprechend lange (ebenfalls bis etwa 24 Stunden) ist.

Die Reaktion der Wurzel auf Narkose ist eine außerordentlich prompte. Bei katetometrischer Ablesung des Gesamtwachstums ergab

sich regelmäßig eine scharfe Knickung der Wachstumskurve schon innerhalb der ersten 20 Minuten nach Eintauchen der Wurzel in die Chlorallösung. Die Knickung entspricht einem Sinken der Wachstumsgeschwindigkeit im Vergleich zur bisherigen bis ums Zehnfache, wie etwa folgendes Protokoll ergibt:

Vor der Narkose		Narkose								
Versuchsdauer in Stunden . .	1	0,5	1	2,5	4	5	6	7	8	9
Wachstumsintensität	5	0,5	0,5	0,2	0,2	0,5	0,2	0,3	0,4	0,1

Nach etwa 2 Stunden stellt sich ein einigermaßen stabiler Zustand eines sehr langsamen Wachstums ein, der nach 10—12 Stunden zum völligen Stillstand kommt. Daß es sich ausschließlich um Streckungswachstum handelt und die Zellvermehrung schon innerhalb 1—2 Stunden sistiert, ergibt sich aus den histologischen Befunden. Eine gewisse Alteration der achromatischen Figur macht sich schon nach etwa 30 Min. geltend. Es kommt nun innerhalb der ersten Stunden zu einer völligen Verunstaltung auch der chromatischen Figur, namentlich der Metaphase und Anaphase, wo die Chromosomen zu formlosen Haufen verklumpen. Spireme erweisen sich am stabilsten. Nach etwa 15 Stunden sind keine deutlichen Residuen von Mitosen mehr erkennbar. Es kann wohl kaum bezweifelt werden, daß es sich nicht um wirklich abgelaufene Zellteilungen handelt. Es sieht vielmehr darnach aus, als ob die mitotischen Figuren eine Art regressiver Metamorphose durchgemacht hätten, die auf den Ruhezustand der Kerne führen. Bei etwa 15—18stündiger Versuchsdauer treten auch im Zellplasma eigentümliche Gebilde auf, die Prof. *Gurwitsch* schon längst als Begleiterscheinungen von O-Mangel (Aufenthalt in reiner H- oder N-Atmosphäre) kannte[1]) und die den sogenannten Nebenkernen vieler Drüsenzellen (namentlich Pankreaszellen) täuschend ähnlich sind. Diese „Erstickungsfiguren" sind auch noch völlig reversibler Natur.

Die angeführten Daten mögen wohl genügen, um die Annahme zu rechtfertigen, daß eine 18—20stündige Einwirkung von ½%igen Chloralhydrat die Wurzel in tiefste Narkose versetzt, bei der die energetischen Lebensabläufe wohl auf ein Minimum reduziert sein dürften. Es scheint uns daher völlig berechtigt, in der Narkose ein Mittel zu erblicken, das uns zur Entscheidung der Frage, ob bei der Ausstrahlung aus der Wurzelspitze ein aktiver Prozeß seitens der letzteren oder eine passive, rein physikalisch zu fassende Fortleitung der aus einem,

[1]) Nach einer nicht publizierten Arbeit von *W. Polowzowa* aus seinem Petersburger Laboratorium.

irgendwo in der Zwiebel selbst gelegenem Zentrum kommenden Strahlung vorliegt.

Es wurden daher Wurzeln nach 15—18 stündiger Narkose in die ebenfalls mit ½% iger Chlorallösung gefüllte Röhre des Induktionsapparates eingeführt, und in üblicher Weise die Induktion vorgenommen. Elf Versuche (davon acht mit abgeschnittenen konischen Spitzen) worüber weiter unten[1]), fielen sämtlich positiv aus und ergaben das gewohnte Induktionsbild. Die histologische Prüfung der induzierenden Wurzeln ergab, zum Überfluß das oben geschilderte Narkosebild. Die Wurzeln können mithin wohl kaum selbst als Strahlungsquellen gelten, es müssen vielmehr solche innerhalb der Zwiebel gesucht werden.

Es findet demnach die in einer vorangehenden Arbeit von Prof. *Gurwitsch* ausgesprochene Vermutung von dem nur sehr schwachen Dekrement der Strahlenintensität bei Durchgang der Strahlung durch lebendes Gewebe ihre volle Bestätigung.

2. Kapitel.
Das Strahlungszentrum und der Ursprung der mitogenetischen Energie.

Der Gedanke war nun naheliegend, in erster Linie an den eigentlichen Ursprungsort der Wurzeln, die sogenannte Zwiebelsohle zu denken. Da wir durch vorangehende Untersuchungen bereits genügend davon unterrichtet waren, daß schon ein kleines, nur den eigentlichen Ursprung der Wurzel enthaltendes Stück der Sohle genügt, um die betreffende Wurzel tagelang im intensiven Wachstum und Zellvermehrung zu erhalten (abgeschnittene Zwiebelwurzeln bleiben höchstens zwei Tage am Leben und stellen ihre Zellvermehrung schon nach etwa 36 Stunden ein), so war der Versuch naheliegend, das Sohlenstück mit dem darin enthaltenen Wurzelursprung einer streng lokalisierten Narkose zu unterwerfen. Eine solche pflegt zu gelingen, wenn man statt einer wässerigen Chloralhydratlösung, das Chloralhydrat in Form einer Gelatinegallerte (1—1½%) benutzt, die man in eine weite Glasröhre einführt, das Sohlenstück darin eintaucht und erst daraufhin erstarren läßt. Die Glasröhre mit frei herausragender, nicht narkotisierter Wurzel wird nun in ein Gefäß für 18—22 Stunden aufgestellt, worin die Wurzel in Wasser taucht, die Gelatineschicht dagegen nicht in Berührung mit Wasser kommen darf, und durch einen kleinen Sturz vor Eintrocknung geschützt wird.

Nach Ablauf der angegebenen Zeit wird mit der Wurzel in gewöhnlicher Weise induziert, wobei das Sohlenstück natürlich in Narkose verbleibt. Von fünf angestellten Versuchen ergaben drei das erwartete Ergebnis: die zum narkotisierten Sohlenstück gehörige Wurzel

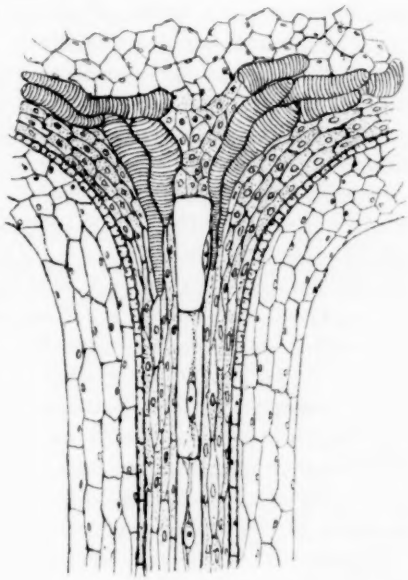
[1]) Die Zahlenangaben werden in der nachfolgenden Mitteilung angeführt.

war mitosenfrei, ihre Induktionswirkung auf andere Wurzeln, wie zu erwarten, gleich Null. In zwei Fällen blieb die Narkose offenbar aus: die betreffenden Wurzeln enthielten zahlreiche Mitosen und übten dementsprechend die gewohnte Induktion aus. Das Verfahren ist eben technisch etwas unsicher, da man nie volle Gewißheit darüber haben kann, wo der, weiter unten zu schildernde Ursprungskegel jeder Wurzel innerhalb des Sohlenstückes eben steckt. Bleibt derselbe durch eine übermäßig dicke Gewebslage von der Narkosegallerte geschützt, so bleibt offenbar die gewünschte Narkosewirkung aus. Die drei positiven Fälle dürften jedoch ausreichen, um uns über die Lokalisation des Zentrums innerhalb der Wurzel zu unterrichten. Unsere Kenntnis desselben kann aber noch durch histologische Befunde erweitert werden.

Das Ursprungsniveau der Wurzeln wird in der Sohle durch mächtige, horizontale Lagen von Tracheiden markiert, von denen ganze Bündel sich in den trichterförmigen Ursprung jeder Wurzel einsenken, aber nicht besonders weit in die Tiefe derselben vordringen. Der von den Tracheiden nicht ausgefüllte Raum der scharf abgesetzten trichterförmigen Wurzelbasis wird durch zweierlei Zellarten ausgefüllt. Es sind erstens kompakte Lagen von kleinen, plasmareichen Zellen, die namentlich in regelmäßiger Weise die Innenkonturen des Ursprungstrichters auspolstern, dann die Ursprungszellen der mächtigen Zentralsäule, die die ganze Wurzel bis auf ihre Spitze durchsetzt und aus einer Zellreihe, häufiger aus zwei oder drei besteht. Der Ursprung der Zentralsäule innerhalb des Trichters ist ganz scharf und unvermittelt, indem eine enorme zylindrische Zelle sich kleinzelligem Gewebe anschließt und sich in der Richtung der Wurzel in eine Längsreihe ähnlich beschaffener Zellen fortsetzt. Es ist dabei zu beachten, daß die ersten Zellen dieser Reihe sehr plasmaarm sind, der Zellinhalt eine einzige große Vakuole darstellt, und der Kern an die Wand plattgedrückt ist. Die distalen Glieder sind bekanntermaßen durch einen axialen, gestreiften Plasmazug mit großem zentral gelegenen Kern ausgezeichnet.

Die äußere Begrenzung des Ursprungstrichters ist von einer außerordentlich regelmäßigen Zellschicht ausgekleidet, die namentlich durch ihre helle Färbung von mehr nach innen gelegenen vorhin erwähnten plasmareichen Polsterzellen absticht: die betreffenden Zellen sind nämlich faktisch plasmafrei zu nennen, da ihr Inhalt ebenfalls nur eine einzige große Vakuole darstellt. Indem sich diese Zellage in die Wurzel fortsetzt, bildet sie daselbst die äußere Bekleidung des großen zentral gelegenen Gefäßbündels. Das Periblem und Dermatogen der Wurzel stammen somit aus kleinzelligem Gewebe, das *außerhalb* des Ursprungtrichters der Wurzel gelegen ist.

In dem soeben beschriebenen Ursprungstrichter der Wurzel dürften wir wohl ihr Strahlungszentrum erblicken, dessen Narkotisierung die zugehörige, aus ihm stammende Wurzel sowohl ihrer eigenen Mitosen, wie auch des Ausstrahlungsvermögens der mitogenetischen Energie beraubt. Es entsteht nun die wichtige Frage: ist jeder Trichter als ein autonomes Zentrum zu betrachten, oder wird durch die Kontinuität der geweblichen Verbindung aller Zentren einer Zwiebel durch ihre Tracheenbündel und plasmareiches Gewebe auch eine solche physiologischer Art hergestellt? Diese Frage muß im negativen Sinne beantwortet werden: jedes Zentrum ist in der Tat physiologisch autonom, was aus folgenden Versuchen erhellt:



Es wurde bereits von Dr. *Ravin* für Helianthuswurzeln beschrieben und von Prof. *Gurwitsch* für Zwiebelwurzeln bestätigt, daß die Abtragung der konischen Wurzelspitze einen vollständigen Stillstand der mitogenetischen Ausstrahlung aus der verletzten Wurzel zur Folge hat.

Jetzt, wo wir die Sicherheit haben, daß die mitogenetische Strahlung nicht aus dem Wurzelgewebe, sondern aus dem Zentrum stammt, läßt sich dieses merkwürdige Verhalten nur durch eine inhibitorische Wirkung auf das Zentrum des durch das Trauma gesetzten Choks erklären. Eine längere Erholungszeit der Wurzel zu gewähren, führt nicht zum Zweck, da von der Wundfläche nach einigen Stunden sich Degenerationserscheinungen einzustellen pflegen. Es wurde daher versucht, die Abtragung der Spitze in tiefer Narkose der Wurzel zu versuchen, um die vermutete Chokwirkung auszuschließen. Es gelang auch dieses in der Tat ohne weiteres. Es lassen sich, wie in der nachfolgenden Mitteilung des näheren ausgeführt werden soll, beliebige Stücke von Wurzeln abtragen, die Ausstrahlung aus den Wurzelstümpfen geht ungestört, in recht intensiver Weise vor sich. Die Vermutung, daß es sich bei Verletzung der nicht narkotisierten Wurzel um eine inhibierende Chokwirkung auf das Zentrum handelt, besteht demnach zu Recht. Wir wissen aber anderseits, daß ein unvergleich-

lich größeres Trauma, und zwar die Abtragung sämtlicher Wurzeln einer Zwiebel bis auf eine, diese letztere ganz unbehelligt läßt, werden ja alle unsere Versuche mit derartigen Wurzeln vorgenommen. Es steht demnach fest, daß die Chokwirkung auf das Zentrum nur von ihrer eigenen Wurzel aus, nicht aber von benachbarten Zentren übertragen werden kann, oder, was dasselbe mit anderen Worten ausdrückt, daß *jedes Zentrum physiologisch autonom* ist.

Ein autonomes cirkumscriptes Zentrum, welches im Organismus als Strahlungsquelle auftritt, lenkt von selbst die Gedanken auf eine Analogie, die uns schon mehrfach vorher in unseren Überlegungen über Entstehungsort und Entstehungsweise der mitogenetischen Strahlungen lockte und zwar mit biologischen *sichtbaren* Strahlungen, die von Leuchtorganen verschiedener Organismen produziert werden. Wenn wir uns an die einfach gebauten Leuchtorgane bestimmter Insekten, z. B. die neue Schilderung von *Walter Heß* (Photurus pensilv. Journal of Morphology V. 36, 1922) halten, so finden wir eine oberflächlich, subcuticulär gelegene, aus einer Syncitiallage zusammengesetzte photogene Schicht, derselben unmittelbar anliegend eine regelmäßige mehrschichtige Epitellage, die vom Verfasser als Reflektor aufgefaßt wird (mit welchem Grund, ist allerdings aus dem Text nicht ersichtlich). Die photogene Schicht wird reichlich durch Tracheen versorgt, die senkrecht zur Körperoberfläche verlaufend, mit ihren Ausläufern dicht an die Innenfläche der Cuticula heranreichen und feinste Ausläufer in die Syncitialmassen senden.

In unserem Objekt dürfen wir wohl die Lagen der plasmareichen, den Trichter teilweise ausfüllenden Zellen ebenfalls für die „photogene" Funktion in Beschlag nehmen. Auch eine „Reflektorlage" könnte in der äußersten, sehr regelmäßigen Schicht vakuolisierter Zellen erblickt werden. Auch die enorm reiche Versorgung mit Tracheiden dürfte im Sinne der gesuchten Analogie verwertet werden, sofern man die Angaben über Gebundenheit von Peroxydasen an die Tracheidenwände berücksichtigt, was, wie wir im weiteren sehen werden, für uns von Bedeutung ist.

Es sei noch im Zusammenhange mit hier ausgeführten auch folgendes hervorgehoben. Berücksichtigt man die Zwiebelsohle in ihrer Gesamtheit, so muß man folgerichtig in dieselbe auch mitogenetische Zentren für den eigentlichen Stammteil der Pflanze verlegen. Die anatomische Anordnung der Gewebe, die wir vermutungsweise mit der mitogenetischen Funktion verknüpfen, entspricht vollauf den Anforderungen, da die kontinuierlichen horizontalen Lagen des plasmareichen präsumptiv „mitogenetischen" Gewebes, die von den Zwiebeltrichtern gewissermaßen durchbrochen werden und unten mit Tracheidenlagen und der einzelliger Schicht vakuolisierter Zellen ausge-

polstert werden, ihre Strahlung ebenso nach oben, wie die entsprechenden Gewebe innerhalb der Trichter nach unten senden müßten.

Die Berechtigung zu allen vorangehenden, gewiß sehr gewagten Zusammenstellungen mit tierischen Leuchtorganen dürfte wohl angesichts der Tatsache anerkannt werden, das der merkwürdige, schon im Jahre 1887 von *Dubois* für Leuchtorgane entdeckte Chemismus der Entstehung sichtbarer Strahlen in prinzipiell übereinstimmender Weise auch in unserem Fall vorzuliegen scheint.

Die von *Dubois* entdeckten Luziferin und Luziferese lassen sich, wie bekannt, aus den Leuchtorganen extrahieren und erzeugen den Leuchteffekt auch in vitro. Einer eben erschienenen Arbeit von *Harvey* (Naturwissenschaften, 1924 Nr. 9) läßt sich außerdem entnehmen, daß es sich nicht um weitgehende Zerstörung des Luziferins durch Luziferase, sondern um bloße, reversible Oxydation desselben in Oxyluziferin handelt. Durch diese Erfahrungen angeregt, versuchten wir mit einem frisch bereiteten mit Wasser verdünntem Brei aus der Zwiebelsohle zu induzieren. Der Erfolg war durchschlagend, wie ein Auszug aus unseren Versuchsprotokollen (Induktion auf 5 mm Abstand durch Luft) ergibt[1]).

Tabelle.

Induktion mit frischbereitetem Brei aus der Zwiebelsohle.
(Nur Differenzen zwischen induzierter und nichtinduzierter Seite der Wurzel angegeben.)

−4	−5	17	22	12	17	18	14	13	17	7	19	14	13	24	
27	32	28	22	16	4	9	9	28	18	33	14	23	16	15	2	−1

Da diese Befunde eine ganz ungeahnte Erweiterung des neu erschlossenen Gebietes mitogenetischer Strahlungen versprechen, mögen hier nur diese Angaben genügen. Es sei nur noch die weitere Tatsache erwähnt, die natürlich als wichtige Stütze für die Analogie mit den Luziferinprozessen erscheint und gleichzeitig die Wichtigkeit der Anwesenheit von Peroxydose in den Tracheiden dartut: die mitogenetische Induktionswirkung geht nur von einem frisch bereitetem Brei aus, nach Verlauf einer Stunde ist der Induktionseffekt des Breies gleich Null[2]). Als Energiequelle der Ausstrahlung dürften demnach, wie übrigens auch zu erwarten, Oxydationsprozesse in Betracht kommen.

[1]) Die fein zerschnittene Sohle wurde in einem Mörser mit geringen Wassermengen möglichst fein zerrieben und die trübe Flüssigkeit in eine Glasröhre von etwa 2 mm Weite eingesogen und sofort mit der Röhre induziert. Die Induktionsresiduen sind dementsprechend breit (erstrecken sich z. B. in dem in der Tabelle angeführten Fall auf 28 Schnitte à 10 μ).

[2]) Diese Tatsache ist auch in anderer Hinsicht von großem Interesse: ist die mitogenetische Strahlung nach einer Stunde völlig abgeklungen, und konnte trotzdem ein intensiver Effekt erreicht werden, so ergibt sich, daß die eigentliche Induktion von Mitosen nur sehr kurzer Zeit bedarf, und die übliche 3-stündige Versuchsdauer, wenn überhaupt, so nur für die große Latenzzeit der Reaktion und langsamen Ablauf derselben von Belang ist.

(5. Mitteilung aus dem histologischen Institute der Universität Simferopol.)

Physikalisches über mitogenetische Strahlen.

Von

Alexander Gurwitsch.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 29. April 1924.)

1. Kapitel.

Versuche über Diffraktion und Spiegelung.

Die Erforschung der rein physikalischen Seite des Induktionsproblems war eine besonders heikle Sache für einen Biologen, zu der ich mich nur nach langem Zögern entschlossen habe, zumal die Ansprüche an die Genauigkeit der Apparatur hier viel höhere, als bei meinen übrigen Versuchen rein qualitativer Natur waren. Es besteht natürlich nur wenig Hoffnung, einen Physiker für die Mitarbeit zu gewinnen, solange die Zwiebelwurzel das einzige Testobjekt für den Nachweis der mitogenetischen Strahlen bleibt[1]). Die quantitative Schwäche der Versuchsergebnisse kann ja natürlich nur zum geringen Teil durch die Konstanz derselben und die strenge an ihnen geübte Kritik ersetzt werden.

Der erste Versuch, dem kapitalen Problem über die präsumptive Wellenlänge der mitogenetischen Strahlen näher zu treten, wurde be-

[1]) Wie unbestimmt die Aussichten auf den rein physikalischen Nachweis biologischer „Strahlen" sind, dürfte aus drei kurzen, soeben in den Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1924, Nr. 5 und 13 erschienenen Mitteilungen von *Nohon* und *Berthelot* erhellen. Ersterer Verfasser glaubt die Radioaktivität lebender Organismen (eines Käfers und eines Blattes) durch die üblichen Methoden der Ionisierung mittels des Elektroskops und der Einwirkung auf die photographische Platte nachgewiesen zu haben. *Berthelot*, der diese Mitteilungen der Akademie vorlegte, fügt hinzu, er habe schon vor Jahren der biologischen Radioaktivität mit sehr empfindlichen Methoden nachgespürt, der Erfolg war aber stets „gleich Null". Sollte *Nohon* recht behalten, so bliebe der exakt wohl kaum zu erbringende Nachweis zu postulieren, daß die von uns entdeckten biologischen Wirkungen (Induction von Mitosen) ihre Entstehung tatsächlich dem gleichen Faktor verdanken, der auch auf die photographische Platte und das Elektroskop wirkt. Bedenken gegen eine derartige Identität lassen sich übrigens schon jetzt geltend machen: die Induktionswirkung geht ja, soweit bisher bekannt, stets von cirkumscripten Bezirken der Pflanzenkeimlinge in scharf umschriebenen Bündeln (z. B. *nur* von dem medialen Bezirk des Kotyledo*randes* des Helianthuskeimlinges, nicht auch von seiner Spreite usw. aus), *N.* will dagegen ein getreues Abbild der Blattspreite auf der photographischen Platte erhalten haben.

reits in der vorangehenden Mitteilung (gemeinsam mit Frl. *Nina Gurwitsch*) geschildert. Versuche mit Zwiebelhäutchen, die in bezug auf sichtbare Strahlen hochgradig durchsichtig, für mitogenetische Strahlen dagegen „trübe" sind, d. h. das Strahlenbündel streuen, haben uns zu dem Satze geführt, daß „dieses am ehesten so gedeutet werden kann, daß die mitogenetischen Strahlen kurzwelliger als optische Strahlen sind".

Unsere Schlußfolgerung war nicht in apodiktischer Form gefaßt, weil das Zustandekommen der Streuung hier an sich nicht völlig eindeutig war. Stellt man sich nämlich die Zellulosewände, die hier als streuendes Medium in Betracht kommen, als ein Mosaik aus völlig durchsichtigen und ebenso vollständig undurchsichtigen Bausteinen vor, so hätten wir es mit einem Beugungsgitter zu tun, was unsere Vermutung über die Kurzwelligkeit der mitogenetischen Strahlen zur Sicherheit erhoben hätte. In gleichem Sinne müßte natürlich eine eventuelle Rauhigkeit der Oberfläche des Häutchens verwertet werden, die sich als zu gering für Lichtstrahlen, dagegen wirksam für mitogenetische erwiesen hätte. Ziehen wir dagegen noch eine dritte Möglichkeit in Betracht, indem wir uns die Zellulosewand aus durchsichtigen Bestandteilen von verschiedenen Brechungsindices denken, so wäre die Schlußfolgerung auf die Kurzwelligkeit der mitogenetischen Strahlen durchaus nicht zwingend. Die Tatsache, daß solche Brechungsdifferenzen sich für optische Strahlen nicht merkbar machen, schließt natürlich letztere Eventualität nicht aus.

Es mußte daher zu einer mehr direkten Methode der Prüfung der Beugungsverhältnisse der Strahlen mittels eines Diffraktionspaltes geschritten werden. Die Anwendbarkeit dieses Verfahrens auf unser Problem ergab sich aus dem positiven Erfolg der soeben besprochenen Streuungserscheinungen durch Zwiebelhäutchen: eine eventuelle Beugung des Strahlenbündels mußte deutliche Induktionsresiduen in der induzierten Wurzel hinterlassen. Aus der Gesamtheit unserer vorangehenden Erfahrungen (vgl. namentlich die Arbeit von Dr. *Rawin*, dieses Archiv **101**) hat sich die Berechtigung der Behandlung des Strahlenbündels als eines annähernd parallelen ergeben. Es konnte daher zur Berechnung des präsumierten Diffraktionseffektes für einen vertikalen Spalt die einfache Formel von *Fraunhofer* verwertet werden:

$$\sin \varphi = \frac{n \lambda}{a},$$

wo φ der Winkel zwischen der Normalen zur Spaltebene und dem Randstrahl des im Vergleich zur Spaltbreite verbreiteten Diffraktionsstreifens, a Spaltdurchmesser, λ Wellenlänge, n eine ganze Zahl (nicht 0) ist, die die Ordnungsnummer der Diffraktionsstreifen angibt[1]). Die Versuchsanordnung war folgende:

[1]) Es kommt für uns nur ein solcher erster Ordnung in Betracht.

Der Diffraktionsspalt wurde durch Zusammenfügen von Objektträgerstücken mit ihren feingeschliffenen Rändern hergestellt und ein solcher von 30 μ Breite (sehr genau bei etwa 100facher Vergrößerung mikrometrisch bestimmt) benutzt. Um den Spalt möglichst genau einzustellen, wurde der kleine Apparat auf den Kreuztisch eines großen *Zeiss*schen Stativs montiert und konnte daher in beiden Richtungen des letzteren sehr fein verschoben und unter Kontrolle des mit einem Okularmikrometer versehenen Horizontalmikroskops genau eingestellt werden. Die Einstellung und Zentrierung der beiden Wurzeln geschah in der bereits geschilderten Weise. Es wurden natürlich möglichst geringe Abstände zwischen den Wurzeln und dem Induktionsspalt eingehalten, die meisten Versuche bei Entfernung von 0,5 mm der induzierenden Wurzelspitze von der Hinterfläche des Spaltes, und von 1 mm zwischen der Vorderfläche desselben und der induzierten Wurzel durchgeführt.

Die möglichen Versuchsfehler könnten nur eine Diffraktion vortäuschen, nicht aber umgekehrt, deren Vorhandensein vertuschen, da sowohl eine etwaige Verschiebung des Spaltes während des Versuchs, als eine Ablenkung der induzierten Wurzel in der Glasröhre gleichsinnig in der Richtung der Verbreitung des Induktionsstreifens wirken müßte. Erstere darf natürlich bei richtiger Versuchsanordnung nicht vorkommen, letztere läßt sich dagegen nicht in allen Fällen streng vermeiden, da bei der individuellen Variation der Wurzeldicke ein ganz genaues Anpassen der Glasröhre an dieselbe nicht immer möglich ist [1]).

Bei einer Wellenlänge von 0,4 μ müßte laut Formel (I) bei Ent-

[1]) Es liegt allerdings eine gewisse Fehlerquelle in der Prüfung an Schnitten vor. Bei Schnitten, die einen nicht zu vernachlässigenden Winkel mit der Längsachse bilden (Schiefschnitten) könnten die peripheren Teile des Induktionsstreifens dem Nachweis einer Induktion entgehen, indem nur ein kleiner Abschnitt der Induktionszone (z. B. nur der Spitzenteil einerseits und der basale andererseits getroffen wird. Es könnte daher wohl ein Induktionsstreifen von etwa 30 μ Breite auf nur zwei Schnitten à 10 μ, also nur in seinem mittleren Teil registrierbar sein. Die Gefahr ist aber in diesem Falle nur imaginär. Es läßt sich stets am Präparat erkennen, ob die Schnittrichtung die richtige ist. Es kommt aber außerdem der günstige, im Text erwähnte Umstand hinzu, daß die beiderseits dem registrierten Induktionsstreifen angrenzenden Werte in unseren Versuchen vielfach sogar negativ sind, was irgendwelche, wenn auch schwache, Induktionsresiduen praktisch aus schließt. Letzterer Umstand ist auch in Hinsicht auf den anderen drohenden Umstand günstig: denkt man sich nämlich einen Induktionsstreifen von 30 μ Breite in Schnitte à 10 μ zerlegt, so dürfte wohl kaum der reine Fall vor- kommen, daß seine Grenzen genau mit den Außenflächen des ersten und dritten Schnittes zusammenfallen. Wird er dagegen beiderseits „angeschnitten", so müßte in den Schnitten 1 und 4 die Induktion nur schwach und nur in Schnitten 2 und 3 zur vollen Geltung kommen.

fernung von 1 mm zwischen vorderer Spaltfläche und induzierter Wurzeloberfläche die Breitenzunahme des Diffraktionsstreifens im Vergleich zur Spaltbreite beiderseits je 13 μ betragen[1]). Es müßte mit anderen Worten eine etwa doppelte Breite des Induktionsresiduums im Vergleich zur Spaltbreite resultieren. Berücksichtigt man auch die Intensitätsabnahme der Randpartie des Streifens, d. h. die Abschwächung der Induktionswirkung, so sollte man immerhin eine Breite der Induktionswirkung von mindestens 50 μ erwarten. Es müßten mit anderen Worten die längsten ultravioletten Strahlen bei der gewählten Versuchsanordnung noch eine deutliche und sicher nachweisbare Diffraktion erfahren. Es blieb aber eine solche in sämtlichen Versuchen (vgl. Tabelle 1) völlig aus. Wir sehen in der Tat, daß der Induktionsstreifen in der Regel nur zwei Schnitte à 10 μ breit ist und scharf abschneidet. Daß in einigen Versuchen speziell negative Werte beiderseits angrenzen, ist natürlich nur ein günstiger Zufall, der das Bild nur schärfer gestaltet. Der Schnittdicke von 10 μ entspricht eine Größe in vivo von etwa 11—12 μ, da eine ziemlich beträchtliche Schrumpfung bei Einbettung pflanzlicher Gewebe schwer zu vermeiden ist. Es wurde mit anderen Worten in den meisten Versuchen ein Induktionsstreifen von etwa 22—24 μ durch Mitosenabzählung registriert, was natürlich in sehr befriedigender Weise mit der Spaltbreite von 30 μ zusammentrifft und die in der Anmerkung geltend gemachten Bedenken entkräftet. Es bleibt mit anderen Worten jede Diffraktionswirkung der mitogenetischen Strahlen offenbar aus, was wohl als weitere gewichtige Stütze des auf Grund des Versuches mit Zwiebelhäutchen ausgesprochenen Satzes gelten kann, daß *falls es sich bei uns um „Licht"-strahlen* (im weitesten Sinne) *handelt, die mitogenetischen Strahlen kurzwelliger als sichtbare Strahlen sind.* Sie gehören aber auch nicht zu bekannten ultravioletten Strahlen, da sie nicht merklich durch Wasser absorbiert werden. Ob ihre Versetzung in das wenig bekannte Gebiet jenseits der ultravioletten Strahlen, etwa in die Nähe der *Lyman*-strahlen wenigstens hypothetisch angängig ist, wage ich natürlich nicht zu entscheiden.

Angesichts der Tragweite der Aufstellung und der Unvollkommenheit der Methodik für den Nachweis der Diffraktion liegt natürlich viel daran, auch noch andere unabhängige experimentelle Stützen für die präsumptive Kurzwelligkeit zu erbringen. Eine sehr gewichtige Bestätigung liegt meines Erachtens in dem gelungenen Nachweise der *mit Streuung behafteten Spiegelung der mitogenetischen Strahlen durch Glas.* Die Versuchsanordnung war folgende:

[1]) Der Breitenzuwachs ist jederseits (in μ) $= 1000 \sin \varphi$, oder $= \frac{1000 \cdot 0{,}4}{30}$ $= 13\,\mu$.

Die Spiegelung wurde von der *vorderen* Glasfläche eines ebenen Mikroskopspiegels geprüft, welcher unter einem Winkel von annähernd 45° zum einfallenden Strahlenbündel senkrecht aufgestellt wurde. Die induzierte Wurzel wurde der induzierenden parallel, also ebenfalls horizontal aufgestellt. Die Zentrierung wurde so vorgenommen, daß das Spiegelbild der induzierenden Röhrenmündung samt der herausragenden Wurzelspitze in das Zentrum des Gesichtsfeldes des mit einem Okularmikrometer versehenen Horizontalmikroskops eingestellt, und daraufhin durch die zu induzierende Wurzel mittels einer oben geschilderten Kreuztischvorrichtung zur Deckung im Gesichtsfelde gebracht wurde. Die Aufsuchung des sehr matten Spiegelbildes von der *vorderen* Glasfläche wird dadurch erleichtert, daß man sich zunächst an dem scharfen Spiegelbilde von der Silberfläche des Spiegels orientiert und dann entsprechend verschiebt. Das matte vordere Bild ist dem scharfen hinteren dicht benachbart.

Wie aus den Versuchsprotokollen zu ersehen, ist das Spiegelungsvermögen des Glases recht bedeutend, dabei aber deutlich *streuend*, da regelmäßig nicht weniger als 11—12 Schnitte Induktionsresiduen aufweisen. Es ist somit die Glasoberfläche für mitogenetische Strahlen wohl als *rauh* anzusehen, was wiederum als Stütze der von mir vertretenen Ansicht von der Kurzwelligkeit der mitogenetischen Strahlen gelten muß (Tabelle 2).

Es wurde in zwei Versuchen auch das Spiegelungsvermögen der Zellulosewände einer direkten Prüfung unterworfen, die für das Nachfolgende von besonderem Interesse erscheint. Es wurden dazu kleine Stücke von Zwiebelhäutchen auf die Spiegelfläche mit Wasser aufgetragen und bis zur glatten Eintrocknung (analog dem Ankleben von Schnitten mit Wasser) belassen. Es wurde daraufhin das Spiegelbild der Induktionsröhre von der Silberfläche des Spiegels direkt *durch* das ausgetrocknete Häutchen beobachtet, und dicht daneben auf das nicht mehr direkt unterscheidbare Spiegelbild von der Vorderfläche des Spiegels eingestellt.

Das Ergebnis blieb unbestimmt wegen der sehr geringen Mitosenzahl (Tabelle 2).

2. Kapitel.

Über den Strahlengang in den Wurzeln.

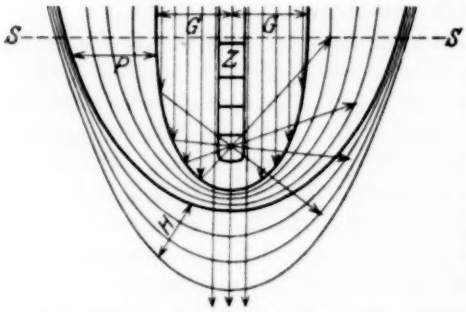
In Ermangelung genauerer Einsicht wurde in allen vorangehenden Mitteilungen ein annähernd paralleler Strahlengang innerhalb der Wurzeln gesetzt, wobei in meinem ursprünglichen Schema (1. Mitteilung, Abb. 8) diese Strahlenbündel als die ganze Wurzeldicke durchsetzend gedacht wurde. Eine wirklich experimentelle Inangriffnahme der wichtigen Frage wurde durch die Ermittelungen meiner Frau (siehe voran-

gehende Mitteilung) ermöglicht, der der Nachweis der Ausstrahlung auch aus narkotisierten Wurzeln gelang. Daß Helianthuswurzeln mit abgeschnittenen Spitzen ihre Induktionskraft einbüßen, wurde schon von *Rawin* gefunden und auf eine Art Chokwirkung zurückgeführt. Ich konnte das gleiche auch für Zwiebelwurzeln bestätigen. Es wurde des weiteren von uns die Frage aufgeworfen, ob nicht eventuell die Chokwirkung der Operation dadurch vermieden werden könnte, daß man letztere in tiefer Narkose der Wurzel vornimmt? Schon der erste Versuch hat die Erwartung in glänzender Weise bestätigt und es wurde dadurch die ungeahnte Perspektive eröffnet, das Verhalten des Wurzelstumpfes in beliebigem Niveau zu studieren.

Die Versuche brachten allerdings eine unliebsame Überraschung. Wird nur die konische Spitze der Wurzel abgetragen und das Induktionsvermögen der freigelegten, etwa 1 mm breiten Fläche studiert, so ergibt sich ganz regelmäßig eine recht intensive Induktionswirkung von nur 11—12 Schnitten à 10 μ Breite, was ziemlich genau dem Durchmesser des ganzen Gefäßbündels der Wurzel entspricht. Da aber aus unseren vorangehenden Erfahrungen mit Kontaktinduktion und Streuung des Strahlenbündels durch Zwiebelhäutchen eine Reaktionsmöglichkeit der induzierten Wurzel auf mindestens 20 Schnitte besteht, so ergibt sich der unerwartete Schluß, daß nicht die ganze Wurzeldicke, sondern nur das zentrale Gefäßbündel der induzierenden Wurzel von dem Strahlenbündel durchsetzt werden. Woher sollte dann der mitogenetische Strahlungsfaktor für das ganze Periblem und das Dermatogen stammen? Liefe nicht etwa unsere Grundannahme von der erzeugenden Wirkung der mitogenetischen Strahlen Gefahr?

Eine nähere Analyse des Sachverhaltes gibt uns hier indes einige Aufklärung. Der im Gefäßbündel verlaufende Strahlenbüschel ist nicht streng parallel, vielmehr allerdings sehr schwach divergent. Indem aus der Schnittfläche dicht an der Basis der konischen Spitze regelmäßig ein Strahlenbündel von 11—12 Schnitten ausgesandt wird, beschränkt sich die induzierende Wirkung aus einer 20 mm basalwärts abstehenden Schnittfläche der gleichen Wurzel regelmäßig auf nur 2—4 Schnitte. Der Divergenzwinkel ist demnach verschwindend klein, es können mithin die Strahlen auf kurze Strecken hin, namentlich innerhalb der nur wenige Millimeter betragenden Teilungszone als annähernd parallel betrachtet werden. Die Tatsache ist aber trotzdem von kapitaler Bedeutung, da sie uns in eindeutiger Weise die Schlußfolgerung aufzwingt, nur in den Zellen der Zentralsäule die eigentliche Strahlungsquelle zu erblicken, was ja schon aus Erwägungen anderer Art von meiner Frau gefolgert wurde. Ob die Divergenz des Strahlenbündels durch die Beschaffenheit des Strahlungszentrums bedingt wird, oder ob es sich um Streuung vom Hause aus paralleler

Strahlen innerhalb des Wurzelgewebes handelt, ließe sich wohl durch spezielle, allerdings außerordentlich mühsame Versuche entscheiden. Ein einzelner Befund spricht für letzteres, da eine, nur 5 mm von der konischen Spitze entfernte Schnittfläche nur noch einen Induktionsstreifen von 6 Schnitten ergibt. Stellt man demnach die Zahlen der drei geprüften Schnittflächen zusammen, so erhält man nicht eine geradlinige Divergenz, sondern einen quasiparallelen Gang innerhalb der 15 mm langen proximalen Strecke und eine relativ bedeutendere Divergenz in der Nähe der mitotischen Zone, was angesichts der verschiedenen Zellbeschaffenheit hier und da recht plausibel erscheint. Es ist aber dieses ein Punkt, der noch weiterer Aufklärung bedarf.



Schematisierte Darstellung des präsumptiven Strahlenganges im Spitzenteil der Wurzel. *G* Gefäßbündel, *Z* Säule der großen Zentralzellen, *P* Periblem, *H* proximaler Haubenteil, *S* Schnittebene bei den Experimenten (vgl. Tabelle 2, erster Abschnitt). Der Strahlenbüschel ist parallel gedacht und füllt (entsprechend den Ergebnissen der Tabelle 2) das ganze Gefäßbündel aus. Die Reflexion ist schematisch nur von der Grenzfläche des letzteren, und zwar an der linken Seite dargestellt. Es wird aber angenommen, daß jede paraboloide Fläche einen Teil der einfallenden Strahlen zurückwirft, den übrigen gebrochen durchläßt usw. Der zentrale, annähernd normal die Paraboloidschalen treffende und ungebrochen aus der Wurzelspitze ausstrahlende Büschel ist durch drei Längspfeile angedeutet.

Die Versorgung des Periblems und des Dermatogens der Teilungszone mit mitogenetischer Strahlung kann nur auf dem Wege einer Reflexion des Strahlenbündels in der Gegend der konischen Spitze gedacht werden. Diese Annahme erscheint durchaus plausibel, wenn man die Gesamtheit der hier gegebenen Bedingungen berücksichtigt.

Alle Schichten des zylindrischen Wurzelteiles verjüngen sich gegen die Wurzelspitze, indem sie mit ihren Konturen mehrere, außerordentlich regelmäßig gezeichnete, annähernd paraboloide Flächen bilden, die wenigstens als annähernd konfokal gelten können (Abb.). Den Paraboloidschalen des eigentlichen Wurzelgewebes schließen sich Zellagen der Wurzelhaube an, die in ihren proximalen Teilen ebenfalls regelmäßig sind. Die Konkavität mehrerer Lagen der Haubenzellen ist konaxial mit den Paraboloidschalen des Wurzelgewebes, die Zellulosewände, namentlich in den seitlichen Partien der Schalen, viel mächtiger, als in den Paraboloidschalen.

Vergegenwärtigt man sich den Strahlengang in seiner ganzen Ausdehnung innerhalb der Wurzel, so erscheint wohl folgendes Bild durchaus plausibel:

Beim Eintritt in die mitotische Zone der Wurzel, ist das Bündel

etwa 70 μ breit (was dem zentralen Teile des Gefäßbündels entspricht) und annähernd parallel. Die Querwände der Zellen werden annähernd normal getroffen und demnach ohne wesentliche Spiegelung und Brechung passiert. Es findet dementsprechend eine nur unbedeutende Verbreitung des Strahlenbüschels und zwar eine Verdoppelung des Durchmessers auf einer Strecke von etwa 5 mm statt (was angesichts der nur geringen Breite des Bündels einem minimalen Divergenzwinkel entspricht).

In der Basis der konischen Verjüngung der Wurzel, wo der Bündeldurchmesser etwa 150 μ beträgt, wird nur der axiale, etwa 40 μ betragende Teil desselben nach wie vor die Zellwände (und zwar die Scheitel der Paraboloide annähernd *normal* treffen und daher ungebrochen und ohne Spiegelung aus der Wurzelspitze heraustreten und den induzierenden Strahlenbüschel bilden. Die nichtaxialen Teile der Paraboloidschalen werden dagegen von den Mantelteilen des Strahlenbündels schräg getroffen und es dürfte an jeder Schale ein Teil der Strahlen mehr oder weniger diffus reflektiert, der durchtretende wiederum von der nächsten in ähnlicher Weise beeinflußt werden, was schließlich zu einer mehr oder weniger vollständigen diffusen Reflexion des ganzen Strahlenmaterials und Versorgung des Periblems und Dermatogens der Wurzel führen muß. Angesichts der vorangehenden mittelbaren und auch direkten Erfahrungen über Spiegelung der mitogenetischen Strahlen (vgl. 1. Mitteilung, Abb. 6 und diese Mitteilung) dürfte die hier vorgeschlagene Konstruktion wohl genügend plausibel erscheinen.

Zusatz bei der Korrektur.

Meine Untersuchungen über den Strahlengang innerhalb der Wurzeln erhielten inzwischen eine gewichtige Stütze durch Versuche, die Herr Dr. *Rawin* auf meine Anregung ausführte, und deren Veröffentlichung er mir freundlichst überließ.

Wie aus meiner ersten Arbeit hervorgeht, muß das Strahlenbündel innerhalb der in eine gebogene Glasröhre eingeführten Wurzel eine mehrfache, mehr weniger diffuse innere Reflexion erfahren, die natürlich zu sehr beträchtlicher Schwächung und Streuung, wenn nicht gar zum völligen Verschwinden des aus der Wurzelspitze austretenden Strahlenbündels führen muß. Die Induktion mit derartigen Wurzeln muß demnach, sollte die ganze Konstruktion richtig sein, vollständig ausbleiben oder bestenfalls nur minimal sein.

Von fünf derartigen, von Dr. *Rawin* angestellten Versuchen mit kräftigen mitosenreichen Wurzeln, fielen vier *völlig negativ* aus, in einem waren nur zweifelhafte Induktionsresiduen nachweisbar. Es mögen hier die Zahlen eines negativen und des einzigen quasipositiven Ver-

suches angeführt werden (nur die Differenzen zwischen induzierter und nichtinduzierter Seite angegeben).

Versuch I (negativ):

−2 −7 −5 −3 0 −1 −2 1 3 −2 2 3 −2 −4 0 −4 −3 2.

Versuch 2 (Andeutung von Induktion?):

2 2 −1 2 −1 −3 5 12 4 5 7 2 4 −1 −4 −2 3 −4.

Tabelle 1. Induktion durch vertikalen Spalt (30 μ Breite).
(Nur Differenzen zwischen induzierten und nichtinduzierten Hälften angegeben.)

1. 2 1 2 5 −1 [14 27 16] 3 2 −4
2. −1 −3 −2 2 −2 [14 15 12] −4 −2 3 3 1 4
3. 3 4 −2 −2 4 −5 −1 −4 −2 [23 12] −4 −3 −1 0
   2 −1 −5 0 3
4. −2 3 5 3 0 [22 15] −1 −1 −1 1 4
5. 0 2 3 0 0 1 −2 [13 13] −1 1 0 −2

Tabelle 2. Induktion nach Spiegelung (ebene Glasplatte).
(Nur Differenzen angegeben.)

1. 0 [11 6 18 16 8 21 13 11 18 20 15] 0 −7
2. 0 [10 10 9 14 5 8 12 10 11 10 8 5 10 7] −3 0

Tabelle 3. Induktion nach Abtragung der konischen Spitze (in Narkose).
(Nur Differenzen angegeben.)

1. −1 [10 12 19 23 20 29 18 25 9 10 14] −6
2. 1 0 [8 11 18 28 14 14 22 12 6 8] −1 0
3. −10 [24 [1]) 31 16 38 15 22 38 33 27 33] 3 2

Induktion nach Abtragung von 2 cm.

1. 3 [13 17 9] −2 1 −2
2. −3 −3 0 [10 21 12 11] −1 1
3. 6 −3 [23 23] 5 −5

Induktion nach Abtragung von 0,5 cm.

−5 −5 −3 [9 11 15 30 15 10] 2

[1]) Ein Schnitt ausgefallen.

(6. Mitteilung aus dem histologischen Institute der Universität Simferopol.)

Die Beschaffenheit der Zelloberfläche als bestimmender Faktor des Zustandekommens der Zellteilung.

Von

Dr. D. E. Schukowsky,

Assistent am histologischen Institut der Universität Simferopol (Krym).

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. April 1924.)

Wir wollen einleitend kurz die Ergebnisse der letzten Arbeiten von Professor *A. Gurwitsch* erwähnen (dieses Archiv, Band 52 (1922) und 100 (1924),

Die Zellteilung erfolgt auf Anregung eines spezifischen Erregers, der von der Zelloberfläche perzipiert wird. Von der augenblicklichen Beschaffenheit dieser Oberfläche bei Anwesenheit des spezifischen extracellulären Erregers hängt es ab, ob die Zelle sich teilt oder nicht. Da in den Zwiebelwurzeln das Streckungswachstum nach dem exponentiellen Gesetze von der Form

$$Z = C + a e^{px} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

erfolgt, wo Z Zellänge, $c + a$ ursprüngliche, kleinste Zellgröße (vor dem Eintreten in das Streckungswachstum), p ein für die gegebene Wurzel konstanter Parameter und x Ordnungsnummer der Zelle (von der Wurzelspitze aus gerechnet) ist, der proportional der Gesamtdauer des Streckungswachstums gesetzt wird, so hat *Gurwitsch* die Hypothese aufgestellt, daß das Wachstum der Zelloberfläche auf Rechnung der Größenzunahme des zweiten Gliedes der rechten Seite der Gleichung (1) $a e^{px}$ zu setzen ist, die Zelloberfläche sich darnach aus zwei Komponenten, einer für alle Zellen konstanten C und einer im exponentiellen Rhythmus, somit rein assimilatorisch wachsenden $a e^{px}$ zusammensetzt.

Da aber andererseits die Teilungsintensität innerhalb eines gegebenen Zellkalibers im Verhältnisse

$$J = Q - nA \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

abnimmt, wo J % Verhältnis der sich simultanteilenden Zellen jedes Kalibers, Q eine für die gegebene Wurzel konstante Größe, n ein Proportionalitätsfaktor und A eine der Zellänge proportionale Größe ist, so wurde des weiteren von *Gurwitsch* gesetzt, daß der Bestandteil der Zelloberfläche C für die Perzeption des Teilungsreizes günstig, der

assimilatorisch wachsende nA dagegen derselben irgendwie entgegenarbeitet.

Da es sich im Vorangehenden um rein statistische Gesetzlichkeiten handelt, so wird natürlich durch obige Formeln dem individuellen Zellcharakter nicht Rechnung getragen, das Eintreffen oder Nichteintreffen der Mitose für jede gegebene Zelle wird mit anderen Worten keinesfalls eindeutig bestimmt. Wir müssen daher, wie *Gurwitsch* meint, in den Wachstumsvorgang der Zelloberfläche gewisse Momente verlegen, die diese individuelle Variation jeder Zelle veranlassen könnten. Das postulierte variable Element in der Oberfläche jeder gegebenen Zelle ließ sich am ehesten in der Verteilungsweise beider zusammensetzenden Bestandteile der ersteren, des C und des A, erblicken. Während in der ursprünglichen Fassung von *Gurwitsch* keinerlei Annahmen über etwaige bestimmte Verteilungsweisen gemacht wurden, kam derselbe auf Grund weiterer Erwägungen zur Ansicht, es könnte sich wohl um ein bestimmtes, mehr oder weniger regelmäßiges, aus beiden Bestandteilen zusammengesetzte Mosaik handeln, wobei speziell die Anordnung des C innerhalb des A eine derartige wäre, daß aus C eine Anzahl „Resonatoren" gedacht werden könnten und die Reizperzeption auf eine Art von Resonanz zurückführbar wäre. Das assimilatorische Wachstum der Zelloberfläche (des Bestandteiles A) hätte im Rahmen dieser Hypothese einen allmählichen Abbau, gewissermaßen eine partielle Zerstörung der ursprünglichen Mosaik zur Folge, wobei dieser Prozeß zwar cellular-individuell verliefe, aber doch im allgemeinen Funktion der Dauer bzw. der Geschwindigkeit des A-Wachstums wäre.

Da der Charakter der Mosaik für das Zustandekommen der Teilungsreaktion maßgebend ist, so erhebt sich die Frage, unter welchen Umständen wir von Schwesterzellen eine Identität ihres Verhaltens zum Reizfaktor zu erwarten hätten?

Die Statistik der Mitosen in Schwesterzellen scheint in der Tat einen nicht unwesentlichen Hinweis auf den Mosaikbau der Zelloberfläche zu geben.

In den Zwiebelwurzeln erfolgen die Zellteilungen in ganz überwiegender Weise in einer zur Zell- bzw. zur Wurzelachse queren Richtung. Wir wollen derartige Teilungen kurz als Querteilungen und die aus derselben hervorgegangenen Schwesterzellen „Querschwestern" nennen.

Aus der Beobachtung einer Längsreihe lassen sich natürlich benachbarte Zellen nie als Schwesterzellen erkennen. Viel seltener teilen sich aber Zellen auch so, daß ihre Teilungsfläche mit der Wurzelachse zusammenfällt. Wir wollen die aus solchen Teilungen hervorgegangene Schwesterzellen als „Längsschwestern" bezeichnen. Solche

Längsschwestern bilden lokale Bifurkationen der Zellreihen, die sich dann wiederum als solche fortsetzten (Abb. 1). Auf Anregung von Prof. *Gurwitsch* habe ich nun die Mitosen in solchen Längsschwestern auf ihren Synchronismus geprüft. Bei Durchsicht von über 300 Längsschnitten verschiedener Zwiebelwurzeln habe ich in 70 Paaren von Längsschwestern Mitosen gefunden. Es ergab sich nun, daß in 36 Paaren die Mitosen völlig synchron abliefen, in 23 Paaren, die eine der Schwestern die andere um eine Phase überholte (wenn man, wie üblich, den ganzen Zyklus in vier Phasen teilt), und nur in sieben Paaren hat die Differenz zwei Phasen und mehr betragen (vgl. Tabelle).

Abb. 1.

Tabelle. Synchronismus der Mitosen in Längsschwesterzellen

	Völliger Synchronismus		Differenz um eine Mitosenphase			Differenz um zwei Mitosenphasen		Differenz um drei Phasen	Gänzlich unsynchronisch	Total
	Spirem Spirem	Teloph. Teloph.	Ruhe Spirem	Spirem Metaph.	Metaph. Anaph.	Spirem Anaph.	Ruhe Metaph.	Ruhe Anaph.	Ruhe Teloph.	
Zahl der Fälle	36	2	20	3	2	4	1	1	1	70
Prozentverhältnis	54,3		35,7			7		1,5	1,5	100

Sondert man die Fälle nach Anwesenheit der „Ruhe", so bekommt man 47 synchronische Fälle (67 %), 20 unbestimmte (28,5 %) und 3 unsynchronische (4,5 %).

Wenn es bei Querteilungen auch unmöglich ist, benachbarte Zellen mit Sicherheit als Schwesterzellen zu identifizieren, so zeigt schon die unregelmäßige Mitosenverteilung, daß Querschwesterzellen sich im allgemeinen nicht synchron teilen. Wir müßten ja sonst sehr häufig Mitosenpaare bzw. ganze Reihen von Mitosen vorfinden, was aber, wie bekannt, nicht der Fall ist. Einer mündlichen Mitteilung von Professor *Gurwitsch* entnehme ich außerdem, daß eine spezielle statistische in seinem Laboratorium durchgeführte Untersuchung (*M. Sorokina*) zum Ergebnisse führte, daß bei benachbarten Zellen (also auch bei *Quer*schwestern) jede Tendenz zum häufigeren Synchronismus, im Vergleich zu nichtbenachbarten, fehlt. Um so auffallender und erklärungsbedürftiger erscheint unter diesen Umständen die Tatsache, daß Längsschwestern sich im allgemeinen synchron teilen. Der Grad des Synchronismus ist außerordentlich bedeutend; berücksichtigt man

in der Tat, daß, abgesehen von 54 % von völliger Synchronie, es sich nur um Differenzen von einem Teilungsstadium, ausnahmsweise von zwei Stadien handelt, und scheinbare Ausnahmen nur in der Kombination Ruhe — Spirem, nur dreimal: Ruhe — späteres Stadium, auftreten, so kann man getrost den allgemeinen Satz aufstellen, daß *Längsschwestern* sich überwiegend *synchron* teilen.

Diese feststehende Tatsache muß nun erklärt werden. Versuchen wir es mit der Hypothese von dem Mosaikbau des perzipierenden Apparates in der Zelloberfläche.

Es muß vor allem betont werden, daß von diesem Standpunkte aus nur die seitlich zylindrische Zelloberfläche in Betracht kommt (wie auch in der Gleichung (2) nur dieselbe auftritt, A Längsachse der Zelle)[1]).

Bei der Querteilung wird die Seitenoberfläche der Quere nach, bei der Längsteilung der Länge nach halbiert. Es erweist sich demnach, daß beide Teilungsmodi nicht die gleichen Folgen für die Beschaffenheit der Zelloberflächen haben. Es ist aber diese Folgerung eigentlich gleichbedeutend mit der Aussage, daß die Beschaffenheit der Zelloberflächen nicht etwa regellos, chaotisch zusammengesetzt ist, sondern eine bestimmte, gesetzmäßige Anordnung ihrer Bestandteile aufweist, die eben in den Begriff des Mosaiks fallen.

Es muß aber außerdem gefolgert werden, daß, da Längsteilungen zu identischen Teilhälften, Querteilungen dagegen zu disparaten führen, der Mosaikbau irgendwie *radiärsymmetrisch* zu setzen ist.

Es entsteht nun die Frage, ob der objektive Sachverhalt mit unendlicher Mannigfaltigkeit der Mosaik verträglich ist, oder ob er nicht vielmehr nur einige wenige Möglichkeiten, als die bei weitem wahrscheinlichsten, freigibt.

Abb. 2.

Eine kurze Überlegung lehrt uns, daß es sich entweder um ein Längs- oder um ein Quermosaik handeln muß, da die Zellen bei der Längsteilung symmetrisch halbiert werden. Um die Assymetrie bei Querteilung abzuleiten, müßte man allerdings der Längsmosaik eine polare Asymmetrie zuschreiben, was durch Erfahrung weder ausgeschlossen noch gestützt wird. Nimmt man dagegen ein Quermosaik, so ist man etwa an folgendes Bild gebunden. Die präsumierten Resonatoren können natürlich am ein-

[1]) Sollte auch die Beschaffenheit der Querwände mitbestimmend sein, so müßte ihr Anteil das Hervortreten des durch Gleichung (2) ausgedrückten Gesetzes völlig verdunkeln, da, wie eine einfache Überlegung lehrt, die, durch jede neue Teilung frisch entstehenden Querwände, in der bunten Verteilung ihres Alters und ihrer Beschaffenheit in gar keinem Verhältnisse zur Zellänge stehen, die die einfache lineäre Abhängigkeit der Gleichung (2) bedingt.

fachsten als in die Zelloberfläche quer eingelagerte Reife gedacht werden. Damit sie bei beliebiger Längsteilung symmetrisch halbiert werden, müssen sie alle gleich lang, d. h. geschlossen sein. Sollen stets nur *einige* von ihnen als Resonatoren tauglich sein (was zur Grundhypothese gehört), so müssen sie natürlich verschiedener Breite sein. Sind die Breitenkaliber regellos verteilt, so können natürlich symmetrische Verhältnisse nur bei Längs-, nicht aber auch bei Querteilung entstehen[1]) (Abb. 2).

[1]) Eine weitere, recht plausible Detaillierung dieses Bildes könnte auch der weiteren von *Gurwitsch* gemachten Annahme von der allmählichen Zerstörung der Mosaik als Folge des assimilatorischen Wachstums der *A*-Bestandteile der Zelloberfläche gerecht werden. Denkt man sich nämlich die Reifen nicht aus reiner *C*-Substanz zusammengesetzt, sondern kleine *A*-Partikel darin eingestreut, so muß das assimilatorische Wachstum des *A* die Kontinuität des Reifes früher oder später sprengen.

Ein bis jetzt unbekanntes zyklisches Geschlechtsmerkmal der Batrachier.

Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes des Frosches.

Von

stud. rer. nat. **Anna Dauwart.**

(Aus dem Vergleichend-anatomischen und experimentell-zoologischen Institut der Universität Riga [Lettland]. Direktor: Prof. Dr. *N. G. Lebedinsky.*)

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 1. Mai 1924.)

Über die Abhängigkeit der Entwicklung des menschlichen Skelettes von der Funktion der Geschlechtsdrüsen unterrichten uns in erster Linie Untersuchungen an Kastraten (*Ecker* 1864, *Merschejewsky* 1876, *Tandler* und *Grosz* 1908, 1909 und 1910 u. a. Aut.).

An Säugetieren, Vögeln und Amphibien ist eine ganze Reihe von Versuchen ausgeführt worden, um den Einfluß der Geschlechtsdrüsen sowohl auf die normale Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale, als auch auf den Organismus überhaupt näher kennenzulernen. Von den Autoren, welche die durch Kastration verursachten Veränderungen an Skeletten behandeln, seien hier vor allem genannt: *Hofmann* (1892), *Sellheim*, *Tandler* und *Keller* (1910) am Rind, *Rörig* (1899), *Holdich* (1905) und *Caton*, *Tandler* (1910), *Tandler* und *Grosz* (1913) an Cerviden, *Franz* (1909) an Schafen, *Sellheim* an Hündinnen, *Steinach* (1911) an Ratten und Meerschweinchen, *Sellheim* an Hähnen, *Harms* (1914) und *Meisenheimer* (1921) an Fröschen.

Mit Hilfe genauer Kastrationsexperimente wurde festgestellt, daß die Geweihe der Hirsche (z. B. *Cervus elaphus* und *Capreolus capreolus*) ein zyklisches sekundäres Geschlechtsmerkmal darstellen, dessen typische Entwicklung nur bei gut funktionierenden Hoden vor sich geht.

Die Geweihe der Rentiere, *Rangifer tarandus*, können nicht ausschließlich als sekundäres Geschlechtsmerkmal angesehen werden, denn auch die Weibchen der betreffenden Art besitzen Geweihe (wenngleich von viel geringerer Größe), welche jährlich abgeworfen und erneuert werden.

Bei Vögeln und Reptilien sind bisher keine zyklischen Geschlechtsmerkmale am Skelett festgestellt worden.

Dagegen weisen unter den Fischen einige Salmoniden solche auf. „*Tchernavin* (1918) hat die mit der Fortpflanzungszeit verbundenen Veränderungen des Skeletts des *Oncorhynchus* eingehend studiert. Besonders scharf verändert sich das Aussehen der Männchen, bei welchen der Unterkiefer (dentale) und der Oberkiefer (promaxillare) sehr stark wachsen und sich krümmen. — Beim *Oncorhynchus keta* wachsen wäh-

rend der Laichzeit die Schlundzähne sehr stark; der Fisch nimmt keine Nahrung zu sich, so daß diese Zähne ihm keinen Nutzen bringen." (Zit. nach *Pawlowsky* [1923]).

Was die Geschlechtsmerkmale der Amphibien betrifft, so ist es bekannt, daß die Vorderextremitätenmuskulatur, wie auch die Daumenschwielen der Froschmännchen zyklische sekundäre Merkmale darstellen, welche ihre maximale Entwicklung zur Brunstzeit erreichen.

Eine weitere Eigentümlichkeit kommt den Vorderextremitäten des männlichen Frosches in der Form eines Skelettmerkmales zu. Am *Humerus* des Männchens sehen wir nämlich eine gut ausgebildete Knochenleiste *Crista medialis;* diese dient als Ansatzstelle für den *M. flexor carpi radialis*, der zur Zeit der Brunst eine mächtige Größe erreicht. Der rudimentäre Daumen des Weibchens stellt einen Knorpelstift dar, während er beim Männchen viel größer und mehr krallen- oder sichelförmig ist; auch besteht er hier aus Kalkknorpel oder kann ganz verknöchern.

Auch die verschieden ausgebildete Form des II. *Os metacarpi* ist ein Merkmal des Männchens; der typische Auswuchs dieses Knochens dient als Ansatzstelle für den *M. abductor indicis longus*, welcher ebenfalls einer ausgesprochenen Saisonvariation unterliegt.

Seinerzeit ist schon darauf hingewiesen worden *(Ecker, Gaupp)*, daß auch die *Crista medialis* einer ähnlichen Variation unterworfen sein könnte und soll im Frühjahr, zur Brunstzeit an Höhe zunehmen.

Wenn man letzteres in Betracht zieht und weiter die enorme Saisonvariation der Vorderextremitätenmuskulatur des männlichen Frosches berücksichtigt, so darf durchaus erwartet werden, daß der ganze Skelettteil, den die erwähnte Muskulatur bedient, einer zyklischen Variation unterliegt, um so mehr, als eine wesensgleiche Skelettvariation schon längst bei den *Cervidae* als Geweihwechsel bekannt ist.

Aus diesen Gründen übernahm ich es gern, das Vorderextremitätenskelett der Männchen der *Rana temporaria* und *Rana esculenta var. ridibunda* daraufhin zu bearbeiten.

Durch meine Untersuchung sollte also festgestellt werden, ob das Gewicht des Vorderextremitätenskelettes der männlichen Frösche bestimmten Schwankungen unterliegt im Zusammenhang mit der Jahreszeit, und somit ein zyklisches Geschlechtsmerkmal darstellt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *N. G. Lebedinsky*, auch an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Untersuchung, sowie für die fortlaufende Unterstützung während der Arbeit meinen verbindlichen Dank auszusprechen.

Diese Arbeit wurde im Frühjahr 1922 begonnen und im Januar 1924 abgeschlossen. Das Material, etwa 300 Frösche, wurde in den

Sommern 1922 und 23 gesammelt und in 80%igem Alkohol konserviert. Für unsere Untersuchung wurden immer bloß die Extremitäten der rechten Körperseite skelettiert und zwar in folgender Anzahl: *Rana temporaria* 72 Männchen und 29 Weibchen, *Rana esculenta var. ridibunda* 53 Männchen.

Als Maßstab zum Vergleich des relativen Gewichtes des Vorderextremitätenskelettes diente das Gewicht der Knochen des oberen Hinterbeinschnittes *(Femur* und *Tibiofibula)*.

Die skelettierten Knochen trockneten 5—6 Tage bei Zimmertemperatur, wobei es sich bei der nach ca. 1 Monat angestellten Kontrollwägung erwies, daß ihr Gewicht sich kaum geändert hatte, höchstens um 1—2 mg. Die trockenen Knochen wog ich mit Hilfe einer Präzisionswage mit einer Genauigkeit bis zu 1 mg.

Zur Feststellung der eventuell vorhandenen Schwankungen im Gewicht des Vorderextremitätenskelettes gebrauchte ich immer folgende Relationen. Angenommen, die Vorderextremität eines *Temporaria*männchens wiegt 102 mg, die Hinterextremitätenknochen 130 mg. Beim Vergleich dieser Gewichtswerte erhalten wir das Verhältnis 102 : 130 = 0,78, welches durch die Prozentzahl 78 ausgedrückt werden kann. Im folgenden werde ich immer die auf die angeführte Weise gefundenen Relationswerte angeben.

Schon die Bearbeitung einer geringen Menge des Materials wies darauf hin, daß das relative Gewicht bei Männchen und Weibchen verschieden ist. Hierzu sei nur ein Beispiel angeführt. Das Vorderextremitätenskelett eines *Temporaria*-Männchens beträgt 73%, bei einem Weibchen gleicher Größe jedoch nur 50%, so ist die Differenz zwischen diesen zwei Größen 23%, was darauf hinweist, daß die betreffenden Skeletteile des Männchens viel robuster ausgebildet sind. Dieser Umstand, sowie die typische Ausbildung der *Crista medialis*, sowie des rudimentären Daumens und des *Os metacarpi* des zweiten Fingers beweisen, daß das Vorderextremitätenskelett der männlichen Frösche ein sekundäres Geschlechtsmerkmal darstellt.

Im Zusammenhang mit meiner direkten Aufgabe, der Klärung der Frage nach der Existenz eines zyklischen Variierens des Vorderextremitätenskelettes, setzte ich das Skelettieren und Abwägen der betreffenden Knochen der Froschmännchen fort.

Um das Vergleichen der gefundenen relativen Gewichtswerte aller untersuchten Individuen zu erleichtern und zugleich ein übersichtlicheres Bild zu erhalten, wurden alle Zahlen in Tabellen zusammengestellt, und zwar geordnet nach den beiden Fangjahren und nach der Größe[1]) der untersuchten Individuen (s. Tabelle I).

[1]) Als Maßstab der Größe dient mir stets das absolute Gewicht der oben angegebenen Hinterextremitätenknochen.

Tabelle I. *Rana temporaria* ♂♂.

Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes. 1922.

Die am 3. V. konservierten Tiere wurden bereits am 31. IV. in copula eingefangen.

	Frühjahr			Herbst		
Größenklassen der Individuen	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur* + *Tibiofibula* Gewicht in mg	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur* + *Tibiofibula* Gewicht in mg
100—150	3. V.	80	100			
	„	74	101			
	16. V.	80	101			
	3. V.	76	102			
	„	73	119			
	16. V.	78	130			
	3. V.	80	137			
151—200	16. V.	75	152	16. IX.	66	154
				„	68	157
	„	80	162			
	„	75	165			
				16. X.	73	172
	27. VI.	70	174	2. X.	71	173
	11. VI.	77	182	16. X.	69	181
				2. X.	77	192
				1. XI.	75	193
				1. XII.	72	194
201—250	3. V.	82	227			
				1. XI.	68	230
				2. X.	77	237
				„	71	246
251—300				8. IX.	68	262
				1. XI.	71	264
				1. XII.	71	264
				1. XI.	72	268
	16. V.	83	278	16. X.	69	278
	„	85	286	2. X.	75	287
301—350				1. XI.	85	300
				„	71	301
	27. VI.	86	307	16. X.	75	306
	„	85	334			
351—400	3. V.	87	352			
				16. XI.	76	364
	16. V.	74	378			

Tabelle I orientiert uns so über die im Jahre 1922 gesammelten *Temporaria*-Männchen. Auf der linken Seite finden wir Angaben über die im Frühjahr, also in der Brunstzeit und während der nachfolgenden ca. 5 Wochen, gesammelten Tiere, auf der rechten Seite dagegen über das Herbstmaterial.

In der ersten Klasse befinden sich die (nach ihrer Größe geordneten) Individuen, deren Hinterextremitätenskelett 100—150 mg wiegt, was auch in der entsprechenden Rubrik der ersten Horizontalreihe angegeben ist. Jede weitere Klasse ist um 50 mg schwerer als die vorhergehende.

In der nächsten Spalte finden wir das Datum, an welchem die Frösche konserviert wurden. Hier sei bemerkt, daß die am 3. Mai konservierten Tiere bereits am 31. April in copula gesammelt wurden, da die Brunstzeit von *Rana temporaria* im Jahre 1922 auf das Ende des April fiel. Nach dieser Zeit sind alle Individuen schon getrennt aufgefunden worden.

In der dritten Spalte ist das relative Gewicht der Vorderextremitäten in Prozenten angegeben, in der letzten die Größe des betreffenden Frosches in Milligramm, d. i. Gewicht von *Femur* und *Tibiofibula*.

Dieselbe Anordnung hielt ich ein bei den Angaben über die Herbstfrösche.

In der ersten Klasse, also der ersten Horizontalreihe, finden sich einige Individuen, welche gleich oder doch beinahe gleichgroß sind, jedoch ist das relative Gewicht der Vorderextremitäten recht verschieden; so zum Beispiel bei 100 mg-Tieren 80% und bei 101 mg-Tieren 74%. Ähnliche Verhältnisse finden wir bei Betrachtung der nächstfolgenden Klassen vor. Es lassen sich jedoch auch Fälle finden, wo bei gleichgroßen Männchen die angegebenen relativen Werte die gleichen sind. Im Frühjahr bei 100 mg-Tieren 80%, bei 101 mg-Tieren 80%; im Herbst bei 264 mg-Tieren 71%, bei 264 71%.

Diese Beispiele zeigen uns deutlich, daß das relative Gewicht der Vorderextremitätenknochen bei den Männchen keine konstante Größe bildet, sondern innerhalb gewisser Grenzen schwankt.

Wie aus den nachfolgenden Untersuchungen hervorgehen wird, stellt das größere Gewicht der Vorderextremitäten der Männchen tatsächlich ein sekundäres Geschlechtsmerkmal dar. Und so darf man vielleicht annehmen, daß das Variieren der Vorder-Hinterbeinerelation eigentlich auf eine schwächere oder stärkere Ausbildung der primären Merkmale, d. h. der inkretbildenden Teile der Gonaden zurückgeht.

Nunmehr können wir uns unserer direkten Aufgabe zuwenden, d. h. der *Vergleichung des relativen Vorderextremitätengewichtes der im Frühjahr und der im Herbst gefangenen Froschmännchen.* Da in unserer

Tabelle I bei den Fröschen der ersten Horizontalreihe kein Herbstmaterial vorhanden ist, nehmen wir zum Vergleich mit den Frühjahrsfröschen die Herbstfrösche der nächsten Horizontalreihe. Hier sehen wir, daß alle Frühjahrsmännchen nach ihrer absoluten Größe kleiner sind, ihr Vorderextremitätenskelett dagegen relativ schwerer ist. Sogar die größten Herbstmännchen erreichen nur in einem einzigen Falle 77%. Beim Vergleich aller in den nächsten Reihen aufgezählten Herbstmännchen mit gleichgroßen Frühjahrsmännchen sehen wir, daß nur in einem einzigen Falle das Vorderextremitätenskelett ersterer 85% erreicht, was beinahe der Relation eines gleichgroßen Frühjahrsmännchens entspricht. Im obigen Falle dürfte es sich vielleicht um eine individuell stark ausgeprägte, mit ganz besonders gut entwickelten Gonaden verbundene Variation des Geschlechtsmerkmales handeln; so daß hier die entsprechende Relation im Frühjahr noch höher gewesen sein mag. Schon bei Betrachtung der zweiten, sich auf das Jahr 1923 beziehenden Tabelle (s. Tabelle II), sehen wir, daß das entsprechende Gewicht bei einigen Männchen sogar bis 90% reicht.

Hier könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, daß die Herbstfrösche, welche im September eingefangen worden waren, nicht sogleich, sondern erst nach einem mehr oder weniger langen Aufenthalt im Vivarium konserviert wurden und daß diese in der Gefangenschaft verbrachte Zeit das Skelettgewicht beeinflußt haben könnte. Die Tabelle II liefert uns den Gegenbeweis; die im Herbst 1923 gesammelten Frösche sind alle schon im September konserviert worden.

Die Tabelle II liefert uns im großen ganzen ähnliche Resultate wie die Tabelle I, und so kommen wir zur Schlußfolgerung, daß zwischen der Variation des Vorderextremitätenskelettes der *Temporaria*-Männchen und den Jahreszeiten eine bestimmte Abhängigkeit existiert; im Frühjahr, während der Brunstzeit, nimmt das Gewicht der betreffenden Skeletteile zu, während es gegen den Herbst hin abnimmt.

Um noch überzeugendere Beweise für das zyklische Variieren des männlichen Vorderextremitätenskelettes der *Rana temporaria* zu erhalten, wurde nach der variationsstatistischen Methode die arithmetische Mittelzahl für die uns interessierende Relation des Vorderextremitätenskelettes berechnet[1]) Für die im *Frühjahr* 1922 untersuchten 19 Männchen ist der Mittelwert samt mittlerem Fehler für das Gewicht: $M = 78,88 \pm 1,11$. Von den im *Herbst* konservierten Individuen wurden 21 Männchen untersucht, darunter nur ein einziges Exemplar, dessen Vorderextremitätengewicht 85% betrug. Bei Berechnung des Mittelwertes dürfte diese Extremvariante, als eine Ausnahme, unberücksichtigt bleiben. In diesem Falle erhalten wir den Mittelwert:

[1]) Im folgenden wird stets unter dem Mittelwerte des Extremitätengewichtes dasjenige dieser Relation verstanden.

Tabelle II. *Rana temporaria* ♂♂.

Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes. 1923.

Die am 12. und 18. IV. konservierten Tiere sind in copula eingefangen.

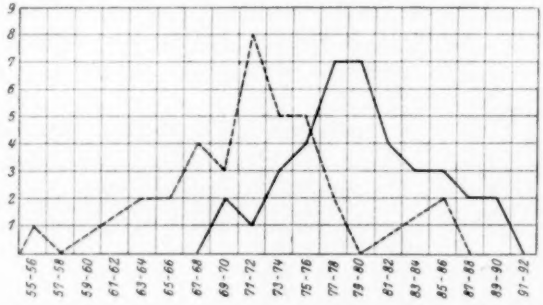
Frühjahr				Herbst		
Größenklassen der Individuen	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur* + *Tibiofibula* Gewicht in mg	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur* + *Tibiofibula* Gewicht in mg
101—150	20. VI.	80	128	19. IX.	55	109
				20. IX.	71	126
151—200	18. IV.	72	183	28. VIII.	64	187
				20. IX.	66	188
201—250	12. IV.	79	206	20. IX.	73	224
				„	74	227
251—300	18. IV.	77	255	26. IX.	68	267
	20. VI.	89	255			
	12. IV.	75	270			
	18. IV.	70	271			
	„	77	283			
	„	83	286			
	„	83	286			
	„	90	289			
	„	88	292			
	„	81	292			
301—350	18. IV.	80	308	27. IX.	75	302
	„	77	322	29. IX.	73	325
	„	82	335	19. IX.	70	335
				20. IX.	63	339
				29. IX.	73	346
	„	78	349			
351—400	18. IV.	82	382			
401—450	18. IV.	77	433	20. IX.	85	439

$M = 71{,}60 \pm 0{,}67$. Vergleichen wir nun die beiden so gewonnenen Mittelwerte, so erhalten wir die Differenz: $D = 7{,}28 \pm 1{,}3$. Diese Differenz zwischen dem Mittelwert der Frühjahrs- und Herbstindividuen ist etwa 5,6 mal so groß wie der mittlere Fehler, daher darf sie als eine fraglos vorhandene betrachtet werden. Sogar im Falle, daß man in

diese Berechnung die vorhin fortgelassene Extremitätenvariante (85 %) mit hineinzieht und die Differenz dadurch kleiner wird, bleibt diese dennoch 4,7 mal größer als der mittlere Fehler.

Der Mittelwert für das Gewicht des Vorderextremitätenskelettes von im Jahre 1923 gesammelten (32 Expl.) *Temporaria*-Männchen ist folgendes: im *Frühjahr* M = 79,98 ± 1,17, im *Herbst* 70,36 ± 1,1; D = 9,62 ± 1,61. Diese Differenz ist noch größer als im Jahre 1922, und übertrifft den mittleren Fehler fast 6 mal (5,9).

Die angeführten Zahlen sprechen somit sämtlich zugunsten des hier behandelten Problems und führen einen überzeugenden Beweis für die Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes der *Temporaria*-Männchen. Vgl. auch die Variationskurven (Abb.).



Rana temporaria ♂♂. Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes. 1922 und 1923. Abszisse = Vorderextremitätenskelett in % des *Femur*- und *Tibiofibula*gewichtes; Ordinate = Anzahl der Individuen. Mit ausgezogener Linie ist die Frühjahrs-, mit Strichen die Herbstkurve angegeben.

Es ist vorläufig noch unmöglich zu entscheiden, ob die obige Erscheinung in direkter Korrelation mit der inneren Sekretion der Geschlechtsdrüsen steht.

Wie verhält sich nun dieses Phänomen bei der hier massenhaft vorkommenden anderen Froschart, *Rana esculenta var. ridibunda*?

In den Jahren 1922 und 1923 fiel die Brunstperiode der *Ridibunda* in den Zeitraum vom 19. V. — 17. VI.; während dieser Frist wurden die Tiere oft in copula eingefangen.

Bei Berechnung des Mittelwertes für das Gewicht der Vorderextremitäten von 53 Männchen (Tabelle III) erhalten wir folgendes Resultat.

Im *Frühjahr*: M = 56,59 ± 0,86; im *Herbst*: M = 50,70 ± 1,03; D = 5,89 ± 1,34, welche Differenz 4,4 mal größer ist als der mittlere Fehler. Somit gilt auch hier die Saisonvariation als bewiesen.

Da es bekannt ist, daß bei allen Rassen der *Rana esculenta* die zyklischen Geschlechtsmerkmale (die Vorderextremitätenmuskulatur und die Daumenschwielen) nicht so stark ausgebildet sind und auch ge-

Tabelle III. *Rana esculenta var. ridibunda* ♂♂.
Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes. 1922 und 1923.

Frühjahr				Sommer und Herbst		
Größenklassen der Individuen	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur* + *Tibiofibula* Gewicht in mg	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur* + *Tibiofibula* Gewicht in mg
251—300				16. VIII.	44	294
				16. VIII.	50	307
301—350	19. V.	53	322			
	23. V.	50	331			
				12. VIII.	48	350
	23. V.	55	353			
				15. VIII.	43	370
351—400				„	48	375
				26. VII.	51	392
				12. VIII.	46	377
				26. VIII.	49	419
				8. IX.	50	420
	7. VII.	50	422			
401—450	29. V. 23	65	425			
	6. VII.	59	426			
				15. VIII.	49	434
	23. V.	56	449			
	25. VI.	44	450			
				12. VIII.	53	476
	18. VI.	58	481	24. VIII.	50	482
451—500	„	61	488			
	6. VI.	56	490			
	„	53	493			
	25. VI.	56	498			
				26. VII.	50	506
				16. VIII.	52	509
501—550	2. VI. 23	59	523			
	25. VI.	55	537			
	17. VI.	58	547	24. VIII.	61	542
				26. VIII.	52	550
	25. VI.	56	551			
	„	61	555			
551—600	19. V.	56	575			
	17. VI.	70	592	26. VII.	53	592
	19. V.	58	593			
	25. VI.	51	601			
	3. VII.	56	612			
601—650						
	19. V.	53	622			
	„	53	625			
				20. VII.	62	628
	25. V.	52	638			
	25. V.	57	666			
651—700						
	17. VI.	65	680			
	25. V.	56	709			
701—750				13. IX.	51	712
	20. VI.	62	722			
751—800	23. V.	61	761			
801—850	28. V. 23	59	821			

ringere Saisonschwankungen durchmachen, als es bei *Rana temporaria* der Fall ist, so wundert es uns nicht weiter, eine ähnliche Feststellung für das Vorderextremitätenskelett gemacht zu haben. Im allgemeinen bestätigt sich jedoch alles, was oben für *Temporaria*-Männchen festgestellt wurde auch für die *Ridibunda*-Varietät der *R. esculenta*.

Da die Möglichkeit einer Saisonvariation der *Crista medialis* der Froschmännchen von anderen Forschern (*Ecker, Gaupp*) bereits erwogen wurde, so lag es nunmehr, nach dem gelungenen Beweis einer Variation des Vorderextremitätenskelettes, erst recht nahe, festzustellen, *an welchen Skeletteil diese Saisonvariation hauptsächlich gebunden ist.*

Zu diesem Zweck wurde das Vorderextremitätenskelett der 35 *Temporaria*-Männchen in seinen Teilen einzeln, d. h. *Humerus, Radiusulna* und *Autopodium*, jeder Abschnitt für sich, gewogen. Danach wurde das relative Gewicht jedes dieser Teile berechnet, und zwar nach derselben Methode wie vorher. Als Maßstab diente also wiederum das Gewicht des oberen Hinterbeinabschnittes (*Femur + Tibiofibula* (s. Tabelle IV).

Hier seien nur zwei Beispiele angeführt:

	Femur + Tibiofibula Gewicht in mg	*Humerus* in %	*Radiusulna* in %	*Autopodium* in %
1. Frühjahr . .	130	37	17	24
Herbst	157	34	14	19
2. Frühjahr . .	255	45	15	28
Herbst	346	40	14	18

Vergleichen wir nun die einzelnen Extremitätenknochen der im Frühjahr gefangenen Frösche mit denen von Herbstfröschen, so sehen wir, daß die Gewichtsabnahme im ganzen Skelett vor sich geht. Bei Berechnung des Mittelwertes erweist es sich, daß sich das Mittelgewicht des *Humerus* der Frühjahrsindividuen (20 Exempl.) wie folgt ausdrücken läßt: $M = 41{,}35 \pm 0{,}95$; im Herbst (15 Exempl.) $M = 36{,}90 \pm 1{,}0$; $D = 4{,}45 \pm 1{,}39$. So ist denn hier die Differenz 3,2 mal größer als der mittlere Fehler. *Radiusulna* ergibt folgende Mittelwerte: im Frühjahr $M = 15{,}7 \pm 0{,}24$, im Herbst $M = 14{,}24 \pm 0{,}32$; $D = 1{,}46 \pm 0{,}4$ also 3,65 mal größer als der mittlere Fehler. Das Mittelgewicht des *Autopodium* beträgt: im Frühjahr $M = 22{,}5 \pm 0{,}54$, im Herbst $M = 18{,}5 \pm 0{,}38$; $D = 4{,}0 \pm 0{,}66$, also um ganze 6 mal größer als der mittlere Fehler.

Alle angeführten Daten lassen nur eine Schlußfolgerung zu:

Obwohl die Variation sich auf das ganze Skelett der Vorderextremität erstreckt, ist sie doppelt so stark ausgeprägt im *Autopodium*, als in den beiden proximaleren Abschnitten des Vorderbeines (*Radius-*

ulna und *Humerus*). Diese Tatsache der so mächtigen *Autopodium*-Variation läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß gerade der am meisten distal gelegene Abschnitt im Frühjahr, während der copula den größten Anforderungen gewachsen sein muß.

Tabelle IV. *Rana temporaria* ♂♂.
Saisonvariation einzelner Vorderextremitätteile. 1922 und 1923.

	Frühjahr				Herbst			
Größenklassen der Individuen	*Femur + Tibiofibula* Gewicht in mg	*Humerus* in %	*Radius-ulna* in %	*Autopodium* in %	*Femur + Tibiofibula* Gewicht in mg	*Humerus* in %	*Radius-ulna* in %	*Autopodium* in %
100—150	100	37	16	27	109	28	11	15
	119	37	15	21				
	128	40	15	24	126	36	15	20
	130	37	17	24				
151—200					157	34	14	19
	174	36	14	19	172	39	15	18
	183	34	15	22	187	32	13	19
					188	34	14	18
201—250	206	40	16	23				
					224	39	15	18
					227	39	15	19
251—300	255	38	15	24				
	255	45	15	28				
	270	37	15	22	267	35	14	19
	283	40	15	21				
	286	45	16	22				
	286	45	15	22				
	289	49	17	24				
	292	48	17	23				
301—350	308	43	15	21	302	39	14	21
	322	41	15	20	325	40	14	18
	334	45	17	23	335	36	15	19
					339	32	14	17
	349	44	13	21	346	40	14	18
351—400	378	41	15	18				
401—450					439	48	16	21

Wie schon anfangs gesagt wurde, ist die *Mächtigkeit des Vorderextremitätenskelettes bei gleich (oder fast gleich) großen Froschmännchen oft verschieden.* Wenn man nunmehr zwei Frühjahrsmännchen der *Rana temporaria* miteinander nach obiger Methode vergleicht, so kann festgestellt werden, welcher Skeletteil daran am meisten Schuld ist.

	Femur + Tibiofibula Gewicht in mg	*Humerus* in %	*Radiusulna* in %	*Autopodium* in %
Frühjahr	100	37	16	27
„	119	37	15	21

Die beiden *Humerus* dieser zwei Männchen sind gleichstark ausgebildet, bei *Radiusulna* ist schon das Übergewicht des ersten Individuums zu bemerken, der größte Unterschied kommt der *Autopodium*-Relation zu, welche beim ersten Männchen um volle 6% größer ist als beim zweiten. Unser Beispiel zeigt nochmals, daß auch hier das Übergewicht von der stärkeren Variation der *distalen* Skeletteile verursacht wird.

Tabelle V. *Rana temporaria* ♀♀.

Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes. 1922 und 1923.

	Frühjahr			Herbst		
Größenklassen der Individuen	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur + Tibiofibula* Gewicht in mg	Wann konserviert	Vorderextremitätenskelett in %	*Femur + Tibiofibula* Gewicht in mg
101—150	16. V. 22	48	103			
	3. V. 22	47	118	20. IX. 23.	51	121
	„ „ „	55	126			
	11. VI.	43	133			
				20. IX. 23.	52	138
	12. IV. 23	56	144	„	54	148
151—200	11. VI. 22	56	157			
	3. V. „	50	168			
				27. IX. 23.	50	173
	12. IV. 23	55	199			
201—250				I. XII. 22.	53	203
	12. IV. 23	54	207	1. XI. 22.	53	205
	„ „ „	55	222			
	8. V. 22	61	225	20. IX. 23.	53	229
				26. IX. 23.	52	230
				27. IX. 23.	52	231
				I. XII. 22.	52	234
				20. IX. 23.	51	235
251—300				16. X. 22.	53	265
	8. V. 22	60	272			
	18. IV. 23	61	278			
	12. IV. 23	62	283			
301—425	6. V. 22	58	320			
	12. IV. 23	59	370			
				20. IX. 23.	52	425

Wie wir bereits wissen, ist gerade das *Autopodium* dasjenige Gebiet, welches beim Saisonvariieren am meisten beeinflußt wird, und so ist es einleuchtend, daß bei eventueller schwächerer oder stärkerer Ausbildung der primären Sexuscharaktere, wie sie individuell vorkommt, die schwächere bezw. stärkere Entwicklung des Knochensystems sich in dem *Autopodium*-Abschnitt am deutlichsten dokumentiert.

Um nun endgültige Sicherheit zu erlangen, daß wir in unserem Hauptphänomen es tatsächlich mit einem zyklischen Geschlechtsmerkmal zu tun haben, wurde auch eine Anzahl (29 Exempl.) weiblicher Tiere[1]) untersucht, und zwar vorläufig nur von *Rana temporaria* (s. Tabelle V).

Beim *Vergleich der Frühjahrs- mit den Herbstweibchen* konnte auch hier eine Gewichtsvariation festgestellt werden. Der Mittelwert der Frühjahrsindividuen ist $M = 55{,}0 \pm 0{,}66$, dasselbe der im Herbst konservierten $M = 52{,}2 \pm 0{,}29$; $D = 2{,}80 \pm 0{,}72$, also 3,8mal größer als der mittlere Fehler.

Ungeachtet des somit erwiesenen Saisonvariierens des weiblichen Vorderextremitätenskelettes bleibt unsere Behauptung, daß die Saisonschwankungen in der Mächtigkeit des Vorderextremitätenskelettes der Froschmännchen ein zyklisches sekundäres Geschlechtsmerkmal bildet, dennoch zu Recht bestehen. Denn hier ist diese Erscheinung viel stärker ausgesprochen als bei den Weibchen; die Saisondifferenz (1922 und 1923) bei *Rana temporaria*-Männchen übertrifft den mittleren Fehler 5,6, sogar 6mal, während dies bei Weibchen nur 3,8mal der Fall ist.

Literatur.

1892. *Hofmann*, Schneidemühls tierärztl. Vorträge. **2**, 12. (Zit. n. *Harms*, 1914). — 1896. *E. Gaupp*, Anatomie des Frosches. Bd. I. — 1899. *A. Rörig*, Arch. f. Entwicklungsmech., **8**. — 1899. *H. Sellheim*, Hegars Beitr. z. Geb. u. Gynäk. **2**. — 1901. Ders., Ebenda **5**. (Zit. n. *Tandler* u. *Grosz*, 1913.) — 1905. *Holdich*, Proc. Zool. Soc. (Zit. n. *Harms*, 1914). — 1909. *J. Tandler* u. *S. Grosz*, Arch. f. Entwicklungsmech. **27**. — 1909. *Franz*, Beitr. z. Geb. u. Gynäk. Bd. XIII (Zit. n. *Weil*, 1922). — 1910. *J. Tandler* u. *S. Grosz*, Arch. f. Entwicklungsmech. **30**. — 1910. *J. Tandler* u. *K. Keller*, Arch. f. Entwicklungsmech. **31**. — 1910. *J. Tandler*, Anz. d. Wiener Akad. (Zit. n. *J. Tandler* u. *S. Grosz*, 1913). — 1911. *E. Steinach*, Zentralbl. f. Physiol. **17**. (Zit. n. *Harms*, 1914). — 1913. *J. Tandler* u. *S. Grosz*, Die biologischen Grundlagen der sekundären Geschlechtscharaktere. — 1914. *W. Harms*, Die innere Sekretion der Keimdrüsen. — 1914. *A. Biedl*, Die innere Sekretion (russische Ausg.) — 1919. *A. Lipschütz*, Die Pubertätsdrüse und ihre Wirkungen. — 1921. *J. Meisenheimer*, Geschlecht und Geschlechter im Tierreiche. — 1922. *A. Weil*, Die innere Sekretion. — 1913. *G. Peritz*, Einführung in die Klinik der inneren Sekretion. — 1923. *E. Pawlowsky*, Biolog. Zentralbl. **43**.

[1]) Die Untersuchungen an den Weibchen beider Froscharten werden von mir im kommenden Frühjahr nochmals, und zwar an einem bedeutend größeren Zahlenmaterial weiter ausgeführt.

(Aus dem Anatomischen Institut der Universität Würzburg.
Vorstand: Prof. *H. Braus*.)

Extremitätentransplantationen an Triton taeniatus.

Ein experimenteller Beitrag zum Determinationsproblem.

(1. Mitteilung.)

Von

W. Brandt.

Prosektor am Anatomischen Institut Freiburg i. B.

Mit 16 Textabbildungen[1]).

(Eingegangen am 12. März 1924.)

Einleitung.

Der Raum- und Zeitfaktor in der tierischen Entwicklung.

Jeder Wachstumsvorgang als formaler Ausdruck der Entwicklung vollzieht sich an einem bestimmten Ort und bedarf zur Auswirkung einer bestimmten Zeit. Die exakte Analyse dieses Raum-Zeitfaktors ist die Grundlage biologischen Verstehens und ermöglicht erst, durch weitere experimentelle Erfassung der den Entwicklungsvorgang auslösenden Realisationsfaktoren Vergleiche zu ziehen zwischen den einzelnen Entwicklungsstadien nahestehender Tierformen.

D'Arcy Wentworth Thompson hat in seiner „Theorie der Transformation" die Körperproportionen verschiedener Tierformen und auch solcher derselben Species, z. B. des Pferdes, miteinander verglichen und durch Einzeichnung eines Koordinatennetzes nachgewiesen, daß die verschiedenen morphologischen Charaktere durch einheitliche Umformung eines Netzes graphisch zum Ausdruck gebracht werden können. Veränderungen der Form gehen also gleichsam unter bestimmter Winkelabänderung eines Koordinatensystems vor sich.

Wenn derartige mathematische Vorstellungen der Erfassung von Entwicklungsvorgängen zugrunde gelegt werden, das rein örtliche Vorkommen rechnerisch mit bestimmten Raumgrößen ausgedrückt werden könnte, wäre zugleich eine schärfere Formulierung des Raumfaktors eines Zellkomplexes, Organes oder Systems möglich. Für diesen Ort der Formulierung stellte *Gurwitsch* den Begriff des embryonalen Feldes auf. Nach diesem Forscher darf nun dieser Feldbegriff durchaus nicht als physikalisches Kraftfeld auf biologisches Geschehen ohne weiteres übertragen werden; vielmehr ist eine Erweiterung notwendig und der

[1]) Sämtliche dieser Arbeit beigefügte Photographien und Skizzen sind vom Verfasser selbst hergestellt.

Ausdruck „Reizfeld" geeigneter. An dem Beispiel des Wachstums der Blütenkörbe der *Matricaria chamomilla* erläutert *Gurwitsch* seine Vorstellungen. Nicht allein das reine Wachstum des Blütenpolsters bedingt die Stellung der Blüten, sondern diese streben zugleich selbständig einer bestimmten Anordnung zu, derart, daß ihre Spitzen dem Umriß einer Parabel folgen, der auch dann befolgt wird, wenn das Blütenpolster im Wachstum zurückbleibt. Dieser paraboloide Zustand im Raum bestimmt also gewissermaßen die Wachstumsrichtung, er ist der mathematische Ausdruck des Raumes des betreffenden Entwicklungsvorganges.

Der Wert dieser erwähnten Vorstellungen von *Thompson* und *Gurwitsch* liegt nun gerade in der Möglichkeit, exakt rechnerisch Auskunft zu geben über bestimmte Formveränderungen, Wachstumsvorgänge, die z. B. bei der Entwicklung der Extremität einer Amphibie aus ihrer Knospe räumlich in Erscheinung tritt. Ein gewisser Zustand im Raum muß vorhanden sein, an den sich die Entwicklung klammert, der typische Ort des Geschehens muß bestimmte Ausdehnung haben, chemisch-physikalische Vorgänge, die ihn in Fluß bringen, werden ihren Wirkungskreis mehr oder weniger weit in die Peripherie ausdehnen, es wird die Wahrscheinlichkeit bestehen, daß das biologische Geschehen, das die Entwicklung einleitet, an einer eng umschriebenen Stelle besonders aktiv ist und daß dann mit der Entfernung von diesem Kreispunkt die Vektorengröße immer mehr abnimmt.

Für die experimentelle Forschung ist die praktische Anwendung dieser Ideen insofern von großer Wichtigkeit, weil wir über die räumliche Ausdehnung der Bezirke, in dem die Organe und Organsysteme angelegt werden zu einer Zeit, da morphologisch noch keine Zelldifferenzierung stattgefunden hat, keineswegs genauer unterrichtet sind und hier exakte Messungen noch völlig fehlen.

Wie verschieden bestimmte Teile des embryonalen Körpers reagieren, zeigen die Untersuchungen von *v. Ubisch*, von *Child* und *Bellamy*. Hier beweisen physiologische Eigentümlichkeiten zugleich den Unterschied morphologischer Raumeinheiten. Auf Grund der Tatsache, daß es möglich ist, Entwicklungsprozesse zu modifizieren, nimmt *Child* an, daß die Organismen nicht gleichwertig dynamisch zusammengesetzt sind, sondern aus verschiedenen aufeinander abgestimmten Organkomplexen „organismic pattern" bestehen. Territoriale Verschiedenheiten bilden die Grundlage dieser Auffassung. Allgemein ließe sich feststellen, daß an tierischen wie pflanzlichen Organismen in den frühen Stadien der Entwicklung die Gegend des Eies oder Embryos, die sich am frühesten differenziert und am schnellsten wächst, zugleich auch am empfänglichsten ist für experimentelle Eingriffe in

Form der Einwirkung von chemischen Stoffen verschiedenster Art. Wertvoll für mathematische Konstruktionen ist auch die beobachtete Tatsache, daß derartige experimentell hervorgerufene Abänderungen der Entwicklung in Beziehung stehen zu den Hauptachsen oder Symmetrieebenen der frühen Entwicklungsstadien, der antero-posterioren, dorsoventralen und mediolateralen Achse. Differenzieren sich besondere Strukturen räumlich heraus, z. B. eine Augenblase oder die Schwanzknospe, so stellt der Raum, innerhalb dessen diese Teile entstehen, den Ort der größten Empfänglichkeit für chemische Einwirkungen dar. Den Wert der Achsenbestimmung und zugleich auch die verschiedene Wertigkeit der Achsen an einer Extremitätenknospe haben *Harrisons* Ergebnisse erwiesen. So viel ist sicher, daß diese verschieden dynamischen Bezirke der einzelnen protoplasmatischen Komplexe des embryonalen Körpers vorhanden sind, ihre genauere räumliche Abgrenzung zahlenmäßig aber noch nicht festgelegt ist.

Die experimentellen Untersuchungen von *v. Ubisch* an Würmern und Amphibien haben ergeben, daß die Differenzierung der einzelnen Zellen nicht an allen Stellen des Körpers gleichzeitig einsetzt, sondern daß ein ausgeprägtes polar orientiertes von vorn nach hinten absteigendes „Differenzierungsgefälle" nachweisbar ist und dementsprechend die Regenerationsfähigkeit von vorn nach hinten zunimmt, weil hinten das relativ jüngste Gewebe sich befindet. Bei diesem „Gefälle" tritt der zu Beginn meiner Einleitung erwähnte zweite Faktor im Entwicklungsgeschehen in Erscheinung, nämlich die Zeit. Räumliche Abschnitte des embryonalen Körpers, die sich früher differenzieren als andere, weisen auch eine andere physiologische Beschaffenheit auf. So konnte *v. Ubisch* weiter zeigen, daß höher differenzierte, also ältere Zellen die Potenzen jüngerer Zellen aktivieren. Es ergibt sich demnach die Notwendigkeit, diesen Zeitfaktor mit derselben Schärfe zu präzisieren wie den Raumfaktor, um eine genaue Analyse eines bestimmten Formvorganges geben zu können. Und hier zeigt sich, daß gerade in den jüngsten Stadien der Entwicklung eines Eies ganz geringe Zeitunterschiede von ausschlaggebender Bedeutung für den sich entwickelnden Organismus sind.

Spemanns Entdeckungen haben bewiesen, daß sich im Blastulastadium eines Amphibieneies mittels medianer Durchtrennung normal proportionierte Zwillinge erzielen lassen, wenige Zeit später, zu Beginn der Gastrulation, mit derselben Operation nur noch Verdoppelungen des Vorderendes. Mit dem Fortschreiten der Gastrulation nimmt die Regulationsfähigkeit immer mehr ab, bis sie nach ihrer Vollendung verschwunden ist. Weiter ist die dorsale Keimhälfte in frühester Zeit im Blastulastadium imstande, die Größe der an ihr sich entwickelnden Medullarplatte mit den Proportionen des ganzen in

Einklang zu bringen. Auch diese Fähigkeit nimmt mit vorrückender Zeit immer mehr ab.

Von ausschlaggebender Bedeutung ist dieser Zeitfaktor gerade für das Problem, das in vorliegender Arbeit den Hauptgegenstand der Untersuchung darstellen soll, das von *Spemann* aufgerollte Determinationsproblem. *Spemann* fand, daß zu Beginn der Gastrulation ein Stückchen reines Ectoderm dicht oberhalb des Urmundes, das normalerweise Medullarplatte geliefert hätte, auf die entgegengesetzte Seite eines anderen Keimes verpflanzt Epidermis liefert und umgekehrt ein Stückchen Epidermis von der Bauchseite des einen Keims auf den ersteren dicht über den Urmund verpflanzt, zu Medullaranlage induziert wird. Dieser Umwandlungsprozeß erlischt aber schon am Ende der Gastrulation, sobald die Medullarplatte erkennbar ist. Zu dieser Zeit liefert das Stückchen über dem Urmund auf der Bauchseite des Wirtes nicht nur keine Epidermis mehr, sondern bleibt Hirnsubstanz und differenziert sich sogar hier zu einem ganz bestimmten Abschnitt des Gehirns, z. B. Auge. Es ergibt sich aus diesen Untersuchungen, daß während der kurzen Zeitspanne des Ablaufs der Gastrulation die Hauptorgane des Amphibienembryos fest determiniert werden, wenigstens bei dem zu den diesbezüglichen experimentellen Untersuchungen verwandten *Triton taeniatus*.

Das Problem des Entstehens und Wirkens der Determination taucht immer wieder in der kausalen Forschung auf und ist auch in den verschiedenen großzügigen Untersuchungen über Extremitätentransplantationen immer wieder angeschnitten worden.

Im Jahre 1903 ist es *Braus* zum ersten Male geglückt, bei Amphibien Gliedmaßentransplantationen auszuführen und auf Grund ihrer Weiterentwicklung am Wirtskörper wichtige Regeln abzuleiten. Seit 1915 sind nun auch in Amerika zahlreiche Arbeiten auf diesem Gebiet der experimentellen Forschung erschienen, insbesondere von *Harrison* und seinem Schüler *Detwiler*. So gelang *Harrison* auf Grund von Untersuchungen an *Amblystoma punctatum* der Nachweis, daß an dem Zellmaterial der Extremitätenknospe, wenn es in ein anderes Milieu verpflanzt wird, der Wirt die Richtung der Entwicklung in bestimmter Weise modifizieren kann und der erwähnte entnommene Zellkomplex in seiner Seitenqualität abgeändert wird. Wurde die Extremitätenknospe bei der Transplantation so gedreht, daß dorsal und ventral vertauscht wurde, so entwickelte sich aus dem Zellmaterial, das am Entnahmetier z. B. eine rechte Extremität geliefert hätte, am Wirtskörper eine linke und umgekehrt. Diese Experimente *Harrisons* wurden nun keineswegs etwa im Verlauf der Gastrulation des Eies von *Amblystoma* vorgenommen, sondern sehr viel später im sog. Schwanzknospenstadium.

Hier taucht nun sofort die Frage auf, wie ist es möglich, daß noch zu einer so relativ späten Zeit Zellenmaterial, das auf Grund der Ergebnisse *Spemanns* an *Triton* längst endgültig determiniert sein müßte, bei *Amblystoma* noch in bestimmter Weise „umdeterminiert" werden kann? Welche Einflüsse sind es, die diese Inversion des Materials bedingen? Sollen wir annehmen, daß, obgleich die Determination bestimmter räumlicher Zellkomplexe während der Gastrulation vor sich geht, so z. B. des Auges, der Extremität, des Hörbläschens usw., doch noch zu einer späteren Zeit entweder eine „Umdetermination" erfolgen kann, oder daß die Determination doch noch nicht endgültig fixiert war, daß die „Lateralität", wie *Streeter* sagt, etwas vom Determinationsvorgang Sekundäres, etwas Späteres darstellt. Derartige Fragen haben schon vor Jahren *Spemann* und *Streeter* bei dem Problem der Inversion des Hörbläschens lange Zeit beschäftigt.

Ehe diese Fragen in der vorliegenden Arbeit zur Diskussion gestellt werden können, sind Experimente notwendig, die das Extremitätenproblem *Harrisons* an *Triton taeniatus* nachprüfen, um diesbezügliche Vergleiche ziehen zu können. In erster Linie sind derartige Transplantationen an demselben Stadium anzustellen, an dem auch *Harrison* experimentierte, dem sog. Schwanzknospenstadium und besonderes Augenmerk ist auf die Art der Drehung des Implantats zu richten, bei der die dorsale und ventrale Seite vertauscht wird, die Vorn-Hintenrichtung aber erhalten bleibt, weil hier die erwähnte Inversion der Lateralität der Extremitätenknospe bei *Amblystoma* eintritt.

Angaben über normale Entwicklung.

Ehe mit der Beschreibung der einzelnen Operationsarten begonnen werden soll, mögen einige genauere Daten der normalen Bildung der Extremität an *Triton taeniatus* folgen, besonders auch Angaben über Knospengröße und Zeitdauer der weiteren Entwicklung, über Umweltfaktoren, wie Wasserbeschaffenheit und Temperatur.

Diese Angaben über normale Entwicklung sind um so wichtiger, als durch sie allein zugleich auch eine genauere Bestimmung des Operationsstadiums des betreffenden Eies oder der Larve möglich wird. Zur Erreichung dieses Zweckes wurden die Entwicklungszeiten und Wachstumsvorgänge an 13 Tieren beobachtet und gemessen. Die angegebenen Daten können natürlich keineswegs im Sinne variationsstatistischer Ergebnisse verwertet werden, hierfür müßten tausende von Larven gemessen werden. Eine derartige Aufgabe liegt aber nicht im Bereich vorliegender Untersuchungen.

Ekman hat 1922 zuerst genauere Bezeichnungen für einzelne Entwicklungsstadien der Anureneier eingeführt, die auch in dieser Arbeit

angewandt werden sollen, soweit ihre Übertragung auf Urodelen möglich ist.

Ekmans Terminologie ist kurz folgende:

Im Stadium A ist die Gastrulation noch nicht ganz beendet, ein kleiner Afterpfropf ist noch vorhanden.

Im Stadium B ist die Gastrulation beendet, aber noch keine sichtbaren Medullarwülste vorhanden.

Im Stadium C werden die Medullarwülste eben sichtbar. Skizze 1, Seite 545.

Im Stadium I bestehen deutliche Medullarwülste, das Medullarrohr ist aber noch offen. Skizze 2, Seite 545.

Im Stadium II ist das Medullarrohr geschlossen, die Kiemenwülste sind nicht oder kaum angedeutet.

Im Stadium III sind die oralen Kiemenwülste sichtbar, am Ende dieses Stadiums setzen die Muskelbewegungen des Tieres ein. Dieses Stadium würde etwa dem Schwanzknospenstadium entsprechen. Skizze 3, Seite 545.

Wenden wir diese *Ekman*schen Bezeichnungen auf das *Triton*-Ei an, so ergeben sich folgende Zeiten: Bei einer Wassertemperatur von 17° geht das Zweizellenstadium in $4^1/_2{}^h$ in die grobzellige Morula über, bei 19—22° ist 24^h nach der Ablage des Eies die Gastrulation bereits eingetreten, nach 28^h besteht ein breiter Urmundspalt, nach ca. 46^h ist die Gastrulation völlig beendet, also Stadium B erreicht, nach ca. $48-64^h$ Stadium C, nach $51-67^h$ bereits Stadium I. Zwischen diesen beiden Stadien liegt eine Entwicklungszeit von 3 bis 7^h. Auf dieses Ergebnis komme ich später noch zurück. Nach $54-72^h$ befindet sich die Larve im Stadium II mit einer Körperlänge von 1,650—1,800 mm[1]). Im Laufe der weiteren Stunden differenzieren sich Kopf und Schwanzende immer deutlicher heraus, der Extremitätenhöcker liegt genau seitlich in der halbierenden dorsoventralen Querlinie und stellt einen stumpfen kleinen Wulst dar, der an der Unterseite ein wenig eingedellt erscheint. Der ganze embryonale Körper hat zu dieser Zeit eine Länge von 1,950—2,100 mm. Nach $68-96^h$ ist das sog. Schwanzknospenstadium erreicht, an dessen Ende die ersten Bewegungen der Larve auftreten. In diesem Schwanzknospenstadium ist die Larve 1,950—2,475 mm lang. Bei einer Wasserwärme von 20° kann eine solche Larve in 5^h 0,150 mm wachsen. Nach weiteren 24^h nimmt infolge größeren Längenwachstums der embryonale Körper innerhalb der Eihülle eine stark gekrümmte Haltung an und ist daher ohne deren Eröffnung nicht mehr meßbar. Läßt man nach künstlicher Eröffnung der Hülle die Larve

[1]) Sämtliche Messungen wurden mit Winkels Okularmikrometer vorgenommen.

ausschlüpfen, so kann sie schon am 4. Tage nach Beginn der Gastrulation aktiv frei im Wasser kreisende Bewegungen ausführen. Die Gesamtlänge einer derartigen Larve betrug in einem Falle 5,400 mm; am 5. Tage nach Beginn der Gastrulation war sie 6,675 mm lang, die Extremitätenknospe bereits an der Basis 0,300 mm breit und insgesamt 0,225—0,500 mm lang. Am 6. Tage ist die Extremitätenknospe, am Außenrand gemessen, 0,750 mm lang, die Gesamtlänge des Tieres 7,650 mm.

Etwa 7 Tage nach völlig beendeter Gastrulation schlüpfen die Larven aus der Eihülle und haben eine Länge von 7,8—8,4 mm, die Vorderextremität ist bereits 0,750—0,825 mm lang und zeigt an ihrem distalen Ende eine seichte Kerbe als Andeutung der beiden ersten sich entwickelnden Finger, auch der stumpfe kleine Buckel des in Entwicklung begriffenen 3. Fingers ist am ulnaren Rand sichtbar. Nach weiteren 24^h, also am 8. Tage, ist die Extremität 0,900 bis 1,050 mm lang, hat deutlich den 1. und 2. Finger entwickelt und weist auch eine etwas stärkere Hervorwölbung am ulnaren Rand als beginnende Sprossung des 3. Fingers auf. Am 9. Tage ist die Extremität in Ober- und Unterarm gesondert, der Humerus ist 0,450 mm lang, der Unterarm einschließlich der Länge des 2. Fingers 0,750, der 2. Finger selber 0,375 mm lang.

Die Temperatur scheint nur in höheren Extremen Einfluß auf die Schnelligkeit der Entwicklung zu besitzen, so entwickelte sich bei 15° ein Zweizellstadium in $5^1/_2{}^h$ zur grobzelligen Morula, dasselbe aber brauchte bei 25° nicht kürzere Zeit, desgleichen wurde dieselbe Entwicklungszeit bei den verschiedenen Temperaturen bis zur Blastula innegehalten. Andererseits können aber auch beträchtliche Schwankungen der Entwicklungszeiten vorkommen, so verstrichen bei 17° zwischen Eiablage und beendeter Gastrulation einmal über 48^h, ein andermal bei 25° gegen Erwarten nur 24^h. Auch die Längenmaße der Larven, die unter denselben Existenzbedingungen gehalten wurden, zeigen ziemliche Unterschiede. So entwickelte sich z. B. aus einem Zweizellstadium bei 25° nach 7 Tagen eine Larve von der Gesamtlänge 7,8 mm, eine andere zu 7,5 mm. Die Länge der Extremitäten der ersteren betrug 0,750, der letzteren 0,675 mm.

Zusammenfassend ergeben sich demnach sowohl gewisse Schwankungen innerhalb der normalen Entwicklungszeit, wie auch Schwankungen in der Größe der einzelnen Larven. Diese Ergebnisse, deren Wert, wie schon angedeutet, erst durch Untersuchungen an einem umfassenden Material gewinnen würde, sollen nichts neues bringen; fiel doch schon *Carl Ernst v. Baer* die außerordentliche Verschiedenheit einzelner Embryonen derselben Tierart auf. Der Zweck dieser Feststellungen ist nur der, eine ungefähre Vorstellung über den Zeit-

faktor zu gewinnen, um z. B. zu wissen, wieviel Zeit ein *Triton*-Ei des Stadiums C braucht, um in das Stadium I überzugehen oder wieviel Zeit verstreicht bis zur vollendeten Ausbildung einer Vorderextremität, weil diese Fragen in das vorliegende Problem hineinspielen, genauere Angaben aber in der Literatur fehlen.

Temperaturen von 35—37° schädigen die Entwicklung so, daß die Larve nur Stadium II erreicht und dann eingeht, wobei die Medullarwülste unregelmäßige Ränder bekommen.

Stark entwicklungshemmend wirkt aber natürlich Eisschranktemperatur von 5—6° C. Liegt z. B. zwischen Stadium C und Stadium I im Durchschnitt ein Zwischenraum von 3—7^h, so verlängert sich diese Zeit bis auf 48^h, und das Schwanzknospenstadium wird nicht vor 8 Tagen erreicht.

Was die Umweltfaktoren anbetrifft, so wurden sämtliche Untersuchungen und Operationen im gewöhnlichen Würzburger Leitungswasser vorgenommen, das sich durch besonders hohen Kalkgehalt auszeichnet. Das Flüssigkeitsquantum in den *Zimmermann*-Schälchen, in denen die Larven sich entwickelten, betrug ca. 25 ccm und wurde täglich oder jeden 2. Tag erneuert; Durchrieselungen der Schälchen mit Luft hatten keinen besonders entwicklungsfördernden Einfluß. Die durchschnittliche Wassertemperatur betrug, wie angegeben, 17—20°; niemals wurden die Tiere direktem Sonnenlicht ausgesetzt, standen aber in ihren Schälchen in der Nähe eines großen lichten Fensters. Gefüttert wurden sämtliche Larven mit Enchyträen.

Vergleichsweise habe ich die normale Entwicklung mehrerer *Amblystoma*-Larven beobachtet[1]) und hier die merkwürdige Feststellung machen können, daß die Extremität in einem viel höheren Alter der Larve erst zur Entwicklung gelangt, so daß gerade in dieser Hinsicht zwischen diesen beiden Urodelen wichtige Unterschiede bestehen, auf deren Bedeutung ich bei Beschreibung der späteren Versuchsergebnisse noch zurückkommen werde. Erwähnen will ich, daß die Eier und Larven sich unter genau denselben Umweltfaktoren entwickelten, wie die von *Triton*. Am 16. Tage nach der Eiablage ist bei *Amblystoma* noch keine Extremität entwickelt, sondern erst eine ganz winzige Knospe sichtbar von 0,300 mm Höhe, während bei *Triton* schon am 9.—10. Tage die Extremität voll entwickelt und in Ober- und Unterarm gesondert ist. Die Länge ist absolut nicht viel größer, als die bei *Triton* erwähnte am 5. Tage nach der Gastrulation oder ca. 6 Tage nach der Eiablage. Bei *Triton* wächst die Extremität auch mehr, wenn man so sagen kann, als Teil des Organismus heraus, d. h.

[1]) Die befruchteten *Amblystoma*-Eier verdanke ich der großen Liebenswürdigkeit von Herrn Geheimrat *Kallius*, wofür ich ihm an dieser Stelle nochmals meinen besten Dank sage.

die Pigmentation der Dorsalseite schließt sich eng an die des Gesamtkörpers an, während bei *Amblystoma* die Knospe mit ihrer weißlich blassen Farbe sich scharf von dem dunkel pigmentierten Körper und den Kiemen abhebt. Diese Unterschiede zwischen den beiden Amphibien bestehen auch noch in den nächsten Tagen in erhöhtem Maße weiter, insofern als bei *Triton* ein beschleunigtes Wachstum der Extremität einsetzt, das bei *Amblystoma* ausbleibt. Wächst die Extremität bei *Triton* am 7. Tage nach der Eiablage auf 0,750 mm an, am 8. auf 0,825, am 9. auf 1,050 und ist sie an diesem oder am 10. Tage völlig entwickelt und in Ober- und Unterarm differenziert, so steht bei *Amblystoma* vom 16.—19. Tage die Entwicklung der Extremität völlig still, während die Gesamtlänge des Körpers in dieser Zeit von 12,0 auf 13,2 anwächst. Erst am 20. Tage ist eine Zunahme der Extremitätenlänge um 0,075 mm festzustellen. 28 Tage nach der Eiablage ist die Extremität 0,823 mm lang, hat noch dieselbe weißliche Farbe wie zu Beginn der Entwicklung und zeigt noch keine Fingerentwicklung am distalen Ende. Der ulnare Rand ist nach dorsomedial, der radiale nach ventrolateral gekehrt. Das distale Ende des Stummels ist in der Mitte leicht zugespitzt. Nach weiteren 5 Tagen, also nach insgesamt einer Entwicklungszeit von über einem Monat, setzt die Fingerentwicklung ein, die also bei *Triton* schon am 8. Tage deutlich sichtbar ist. Um diese Zeit ist die Extremität bei *Amblystoma* 1,125 mm lang, die Gesamtlänge des Tieres 15,0 mm. Die Haltung der Extremität ist auch anders als bei *Triton*; sieht man bei *Triton* die beiden zuerst sich entwickelnden Finger deutlich nebeneinander liegen, den ulnaren zweiten, etwas längeren Finger medial neben dem kürzeren ersten radialen, so decken sich diese beiden bei *Amblystoma* vollständig, der ulnare liegt ganz dorsal, der radiale ventral. Die Unterschiede in der Pigmentation wurden schon erwähnt.

Es ergibt sich demnach das proportionale Verhältnis der Extremitätenlänge zur Körpergesamtlänge zur Zeit der Entwicklung der beiden ersten Finger bei *Triton* am 8.—9. Tage $\frac{1{,}050}{9{,}15}$, bei *Amblystoma* am 33. Tage $\frac{1{,}125}{15{,}0}$, d. h. die absolute Länge der Extremität ist zur Zeit der Herausdifferenzierung der beiden ersten Finger fast die gleiche; die Differenzierung setzt aber bei beiden Urodelen in ganz verschiedenen Zeiten ein; die relative Länge der Extremität steht daher zur Gesamtlänge des Körpers in einem anderen proportionalen Verhältnis. Weitere Einzelheiten über Wachstumsgeschwindigkeiten der Unterabschnitte der Extremität werden bei den Verdoppelungen angegeben werden.

Nach diesen kurzen Angaben der normalen Entwicklungszeiten der Larven wie der Extremitäten, sowie der Milieufaktoren sollen zuerst die Operationsarten besprochen werden, die im Anschluß an die Untersuchungen von *Harrison* eine Klärung des am Ende der Einleitung skizzierten Problems zu bringen versprechen.

I. Kapitel.

Extremitätenknospen-Transplantationen an Triton taeniatus im Schwanzknospenstadium.

Die Anregung zu diesen Versuchen verdanke ich meinem hochverehrten Chef, Herrn Professor *Braus*, der mich auch in sämtliche Einzelheiten der komplizierten Technik und der Operationsmethoden eingeführt hat. Ich erfülle hier im Beginn der Arbeit die angenehme Pflicht, Herrn Professor *Braus* für sein großes Interesse und seine zahlreichen Ratschläge meinen aufrichtigen Dank zu sagen.

Insgesamt liegen den folgenden Untersuchungen 147 Transplantationen im Schwanzknospenstadium zugrunde, deren Ergebnisse, soweit sie die heterotopischen Transplantationen betreffen, in diesem Kapitel beschrieben werden sollen, während im zweiten Kapitel die Operationen zur Besprechung kommen, die in einem wesentlich früheren Entwicklungsstadium ausgeführt worden sind. Bezüglich der Terminologie wurden die Begriffe orthotopisch, heterotopisch, homopleural und heteropleural im *Harrison*schen Sinne gebraucht[1]).

Tabelle I gibt eine kurze Übersicht der ausgeführten Transplantationen.

Was die Größe des entnommenen Materials anbetrifft, so gibt *Harrison* an, daß er bei *Amblystoma* einen Kreisschnitt von $3^1/_2$ Somiten-Durchmesser = 0,9 mm, unterhalb des 3., 4., 5. und $^1/_{26}$. Somiten ausführte und sowohl Ectoderm wie Mesoderm entnommen hat, das dann unter bestimmter Drehung hinter die normale Knospenanlage eines anderen gleichalterigen Tieres transplantiert wurde.

Bei *Triton* ist die Abzählung der Somiten wegen ihrer unscharfen Abgrenzung gegeneinander sehr erschwert. Erst unmittelbar oberhalb des hinteren Randes des Kiemenwulstes wird ein Somit sichtbar, hinter den sich drei weitere anschließen, die in ihrer Längsausdehnung zugleich auch der Breite des dorsalen Randes des entnommenen Materials entsprechen. Phot. Nr. 1 und Skizze Nr. 3 geben eine Vorstellung von der Lage der Extremitätenknospe ventral von den erwähn-

[1]) Sämtliche Fälle, die Verdoppelungen lieferten, werden in dieser Arbeit nicht besprochen, sondern die Einzelheiten mit den sich daran knüpfenden Problemen in einer besonderen Mitteilung erscheinen; dort werden auch die Ergebnisse der orthotopischen Transplantationen einer genaueren Analyse unterzogen.

Tabelle 1.

Übersicht der Operationen im Schwanzknospenstadium *Triton taeniatus* (insgesamt 147).
Heterotopische Transplantationen (insgesamt 66).

Operation	Zahl der Experimente total	positiv	Protokollnummer	Einzelne Gliedmaße wirtsseitenverkehrt	Einzelne Gliedmaße wirtsseitenrichtig	Verdoppelung	Zugrunde gegangen
homopleural dd.	7	4	15, 16, 22, 62, 63, 69, 89			15, 22, 63, 69	16, 62, 89
homopleural dv.	26	6	17, 20, 21, 24, 25, 58, 59, 86, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 122, 123, 125, 126, 127, 128, 134		20, 125, 128	17, 58, 122	21, 24, 25, 59, 86, 95, 96, 97, 98, 99 bis 105, 123, 126, 127, 134
heteropleural dd.	10	6	32, 34, 42, 45, 46, 47, 48, 50, 57, 74	45, 46, 47, 57, 74		32	42, 48, 50, kümmerlich: 34
heteropleural dv.	23	9	29, 44, 65, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 91, 93, 121, 130, 131, 132, 133, 135, 142	44, 65, 77, 84		75, 82, 85, 91, 132	29, 76, 80, 81, 83, 121, 133, 135, 142, kümmerlich: 78, 79, 93, 130, 131

Außer diesen Transplantationen wurden ausgeführt:

Vorübungen Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8; ohne Angabe der Drehung: 23, 41, 94, 143.
Heteroplastische Operationen: *Triton taeniatus* auf *cristatus* Nr. 10 ohne Erfolg: *Triton taeniatus* auf *Amblystoma* 136, 137, 138, 139, 140, und umgekehrt 141 ohne Erfolg.
Homöoplastische Operationen: *Triton cristatus* Nr. 9 ohne Erfolg.
Halbe Knospen transplantiert: Nr. 11, 12, 13, 14, 18, 19, 35.
Transplantationen auf den Kopf: Nr. 30, 54, 64, 68, 70.
„ „ „ Schwanz: Nr. 31.
„ „ die Kiemen: Nr. 33, 51, 52, 55.
„ „ den Bauch: Nr. 38.
Zerstörung halber Knospen: Nr. 39.
Drehung eines Teils der Bauchwand: Nr. 60 61.,

ten drei Somiten. Man sieht auch, daß der dorsal vom Kiemenwulst gelegene Somit in diesen Bereich noch mit hineinreicht. Zwischen Kiemenwulst und Extremitätenknospe liegt eine tiefe Bucht, die das Auffinden der Operationsstelle erleichtert. Bei einer Gesamtlänge des Tieres von 2,47 mm beträgt die Breite der Extremitätenknospe 0,45 mm.

Die Knospe wurde mit einem besonders zugeschärften Star-Lanzettmesserchen rings umschnitten und da Pigmentmarken, die Dorsal- und Ventralseiten unterscheiden, völlig fehlen, mußte auf winzige Unebenheiten des Schnittrandes besonderes Augenmerk gerichtet werden, damit bei Verpflanzung auf die andere Larve die Drehung der Knospe absolut sicher beobachtet werden konnte. *Harrison* erwähnte, daß ihm Pigmentationen der Knospe als Orientierung bei der Einpflanzung dienten; leider fehlen derartige lokalisierte Pigmentationen oder stärkere Pigmentanhäufungen an der Knospe bei *Triton* völlig. Stets wurde Ectoderm und Mesoderm entnommen, welch letzteres sich ziemlich deutlich von dem etwas helleren, weißlichen Ectoderm abhebt. Die orthotopische Implantation wurde nach gründlicher Reinigung des Wundbettes und völliger Entfernung von Ectoderm und Mesoderm ausgeführt. Die heterotopische Implantation erfolgte, sofern nicht besondere Ziele verfolgt wurden, die später erwähnt werden, im allgemeinen hinter den Ort der normalen Extremitätenknospe, wobei zum mindesten ein Somit Zwischenraum gelassen wurde. Es ergeben sich somit für die orthotopisch und heterotopisch implantierten Knospen zwei Zentren (Skizze 3). Die Photographie Nr. 1 soll eine Vorstellung geben vom Aussehen der Larven nach beendeter Operation.

Phot. Nr. 1. Extremitätenknospen-Transplantation im Schwanzknospenstadium. Die Larve rechts, deren Kopf nach unten gerichtet ist, ist das Entnahmetier. Die Grube hinter dem Kiemenwulst stellt die Stelle dar, an der die Knospe entnommen ist. Letztere wurde der anderen Larve auf der rechten Körperseite implantiert, so daß hier 3 Höcker sichtbar sind: der Kiemenwulst, dahinter die normale Extremitätenknospe und hinter dieser die implantierte Knospe.

1. Heterotopische homopleurale dorsodorsale Transplantation.

Bei dieser Operationsart wird lediglich eine Knospe hinter die normale der gleichen Seite ohne Drehung implantiert. Insgesamt wurden 7 derartige Operationen ausgeführt. Von diesen 7 gingen 3 Larven zugrunde, 4 entwickelten verdoppelte Extremitäten, deren Besprechung an anderer Stelle erfolgen wird.

2. Heterotopische homopleurale dorsoventrale Transplantation.

Bei dieser Operationsart wird die Knospe nach Drehung um 180° hinter die normale derselben Seite implantiert.

Insgesamt wurden 26 Operationen ausgeführt, von denen 6 ein positives Resultat ergaben. Dreimal entwickelten sich einheitliche Extremitäten, dreimal Verdoppelungen, der Rest der Larven ging zugrunde.

Bei der unter Rubrik 1 beschriebenen Operationsform wurde lediglich die Extremitätenknospe ohne irgendeine Drehung implantiert; es konnte daher auch nicht eine bestimmte Wachstumsrichtung beobachtet werden, die sich auf Grund endogener Eigenschaften der Knospe selber oder unter dem Einfluß des Milieus entfaltete. Bei der jetzt zur Besprechung kommenden Transplantationsart aber wurde z. B. eine rechte Knospe auf der rechten Seite der Larve um 180° gedreht und dann heterotopisch implantiert; d. h. es wurde nicht nur dorsal und ventral, sondern auch vorn und hinten vertauscht.

Aus den *Harrison*schen Ergebnissen geht hervor, daß die Vorn-Hintenpolarität im Schwanzknospenstadium von *Amblystoma* fest determiniert ist, und es stände demnach zu erwarten, daß, wenn diese Eigenschaft auch *Triton* besitzen würde, in unserem Falle die Extremität nach vorn wachsen müßte. Die merkwürdigste Eigenschaft der Extremitätenknospe bei einer *Amblystoma*-Larve im Schwanzknospenstadium ist nun aber die Möglichkeit der Inversion der Seitenqualität bei Tausch von dorsal und ventral. Über diese beiden Probleme der Determination der Vorn-Hintenpolarität und der Dorso-Ventralpolarität könnte also die vorliegende Operationsart Auskunft geben.

Bei Nr. 20 wurde die rechte Knospe einer Larve explantiert und dann demselben Tier unter Berücksichtigung von etwa zwei Somiten Zwischenraum wieder eingepflanzt. Nach 16 Tagen wuchs die Knospe lateral-dorsalwärts aus, nicht, wie zu erwarten war, nach vorn und zeigte bereits nach weiteren 4 Tagen die Andeutung der ersten Finger. Beim Kriechen des Tieres wurde lediglich der Regenerationsstumpf benutzt, selbst in dem kümmerlichen Zustand, in dem er sich um diese Zeit befand. Die voll entwickelte implantierte Extremität blieb auch späterhin völlig bewegungslos. Obgleich die motorische Funktion ausgeblieben war, konnte doch einwandfrei nachgewiesen werden, daß durch zartestes Berühren der Oberfläche des Implantats Abwehrbewegungen in dem normalen Regenerationsstumpf ausgelöst wurden, so daß also sicherlich sensible Nerven in das Implantat hineingewachsen sein müssen. Nach insgesamt 27 Tagen stand der Ellenbogen nach dorsalwärts, der Winkel war nach ventral offen, der Handrücken nach vorn gerichtet, die Palma nach hinten. An der Pigmentation und der Krümmung der Finger konnte man erkennen, daß die Extremität ihre Seitenqualität behalten hatte, eine rechte geblieben war, deren pigmentierte Dorsalseite vorn lag. Für das vorliegende Problem soll aber dieser Fall weder im positiven noch negativen Sinne verwendet

werden, weil die primäre Auswachsrichtung des Stumpfes nach lateraldorsal und nicht nach vorn, die spätere Haltung des Ellenbogens, die Anordnung des Pigmentes, die Stellung der Finger dafür sprechen, daß die Knospe nicht um 180°, sondern nur um 90° gedreht sein mußte. Bekräftigt wird diese Vermutung auch durch Beobachtung des Falles Nr. 125 und 128.

Dieser Fall 125 ist insofern ein Gegenstück zu Nr. 20, als hier die Wachstumsrichtung nach vorn unten deutlich 11 Tage nach der Operation zu erkennen war. Leider blieb die Extremität kümmerlich und die Larve ging am 16. Tage ein, so daß die Weiterentwicklung der Extremität nicht mehr beobachtet werden konnte. Doch zeigte der Stummel noch ganz schwache Andeutungen eines nach hinten oben offenen Ellenbogenwinkels. Dementsprechend war die Pigmentation bei ventraler Betrachtung des Tieres sichtbar, d. h. die Extremität hatte sich so entwickelt, wie es nach einer Drehung um 180° zu erwarten wäre, wenn keine Inversion und auch keine Rotation eintritt; die dorsale Seite ist eben nach ventral zu liegen gekommen. Wachstumsrichtung, Lage des Pigmentes und Ellenbogenwinkels zeigen sicher an, daß die Extremität geblieben ist, was sie war. Betont werden muß aber, daß das Implantat kümmerlich blieb und nicht den Entwicklungsgrad der normalen Extremität erreichte. Deswegen kann auch diesem Fall keine volle Bedeutung zukommen.

Nr. 128 reiht sich dem eben besprochenen Fall vollkommen an. Auch hi wuchs das Implantat 11 Tage nach der Operation nach vorn und zeigte bei dorsaler Betrachtung keine Pigmentation. Um nun klarere Vergleichswerte zu besitzen und die verschiedenen Größen der sich entwickelnden Gliedmaßen exakter festzustellen, wurden bei diesen Tieren in derselben Weise wie bei den früher untersuchten normalen Larven mit Hilfe von *Winkels* Okularmikrometer Messungen der Gliedmaßen vorgenommen. Es betrug 16 Tage nach der Operation die Länge der beiden normalen Extremitäten 0,975 mm, an diesem Tage waren die beiden ersten Finger und der dritte andeutungsweise entwickelt. Das Implantat ragte als kleiner Stumpf aus der seitlichen Bauchwand heraus, hatte deutliche Wachstumsrichtung nach vorn und besaß am distalen Ende eine nach vorn-medial gerichtete Spitze. Die Gesamtlänge des Stumpfes betrug 0,525 mm. 4 Tage später betrug die Länge des normalen Humerus 0,675 mm, des Unterarmes 1,050 mm, während die gesamte implantierte Extremität nur 0,825 mm lang war und außer einem in Verlängerung des Stumpfes gelegenen Finger nur ganz schwache Andeutungen weiterer Fingerbildung am Außenrand besaß. Nach weiteren 2 Tagen hatte sich die normale Extremität nicht wesentlich vergrößert, die implantierte war auf 1,125 mm angewachsen, d. h. sie war nur um 0,075 mm

länger als der normale Unterarm. Die Finger hatten sich jetzt aber deutlicher herausdifferenziert, so daß man den ersten, zweiten und den stumpfen Ansatz vom dritten erkennen konnte. Es ergab sich somit, daß der erste Finger nicht wie der der normalen Extremität am vorderen Rand saß, sondern am hinteren. Hinzu kam, daß der weitaus größte Teil der nach dorsal gerichteten Fläche des Implantats pigmentfrei war, also der Volarseite angehörte. Somit stand also die implantierte Extremität genau wie im vorher beschriebenen Fall Nr. 125; sie war einmal nach vorn gewachsen, und da sie in allen ihren übrigen Eigenschaften ihre Seitenqualität gewahrt hatte, kehrte sie somit auch ihre Volarseite nach dorsal. Endlich war sie wie dort völlig unterentwickelt. Die Extremitäten dieser beiden Fälle zeigen somit keine Inversion, keine Rotation und sind in ihrer Gesamtheit unterentwickelt.

Betrachten wir diese Fälle zusammenfassend, so weisen sie auf gewisse Unterschiede hin gegenüber den Befunden, die *Harrison* bei *Amblystoma* erhielt. Dort ergaben unter 31 Operationen 12 ein positives Resultat, unter denen 11 einzelne Gliedmaßen und nur eine einzige Verdoppelung sich befanden. Infolge Inversion der dorsoventralen Polarität waren diese einzelnen Gliedmaßen wirtsseitenverkehrt, d. h. es entwickelte sich z. B. auf der rechten Seite des Körpers aus der um 180° gedrehten Knospe eine linke Extremität.

Die Fälle Nr. 20, 125 und 128 scheinen nun folgendes zu zeigen. Die feste Determination der Vorn-Hintenpolarität ergibt sich deutlich aus der Wachstumsrichtung nach vorn bei Nr. 125 und 128. Daß diese Polarität tatsächlich endgültig determiniert ist, bestätigen zahlreiche weitere Experimente, die später besprochen werden, besonders auch die Transplantationen auf den Kopf, die vollentwickelte, kräftige Extremitäten lieferten. Was die dorsoventrale Polarität anbetrifft, so haben gerade die beiden letzterwähnten Fälle gezeigt, daß das Pigment, das normalerweise stets dorsal liegt, am Implantat nur bei Betrachtung von der ventralen Seite sichtbar wird, d. h. also, daß die Extremität die Orientierung, in der sie eingepflanzt wurde, beibehalten hat und nicht invertiert worden ist. Allerdings war die weitere Ausbildung der Implantate, wie bereits erwähnt, bei diesen beiden Fällen sehr kümmerlich und daher eine Rotation, die auch ohne Inversion diese ursprünglich normale dorsoventrale Orientierung hätte wiederherstellen können, ausgeblieben. Auf diesen Rotationsvorgang komme ich bei den orthotopischen Transplantationen zu sprechen.

Zur Frage nach der endgültigen Determination der Vorn-Hinten- und der Dorso-Ventralpolarität können nun diese erwähnten Fälle nur unter Vorbehalt als Beweise herangezogen werden, da die Implantate keine wahren Vollextremitäten der Länge, der Ausbildung

der Finger und des Ellenbogens nach lieferten. Die Lage der Vollextremität bei Nr. 20 wurde bei Beschreibung des Falles zu erklären versucht.

3. Heterotopische heteropleurale dorsodorsale Transplantation.

Bei dieser Operationsart wird die Knospe hinter die normale der anderen Seite unter Tausch von vorn und hinten implantiert. Die Ergebnisse müssen daher von Bedeutung sein für die Erkenntnis, ob es eine fest determinierte Vorn-Hintenpolarität gibt oder nicht.

Ferner bezogen sich die beiden bisher erwähnten Transplantationen lediglich auf Verlagerung der Knospe auf einen anderen Ort derselben Seite; bei den beiden im folgenden zur Besprechung gelangenden Operationsarten wird zugleich auch auf die entgegengesetzte Seite der Larve implantiert. Insgesamt wurden 10 Operationen ausgeführt, von denen 6 ein positives Resultat lieferten. Fünfmal entwickelten sich einheitliche Gliedmaßen, einmal eine Vordoppelung, 3 Larven gingen zugrunde, einmal entwickelte sich ein verkümmertes Glied.

Nr. 34 soll wegen der bilateralen Mißbildung der beiden normalen Extremitäten hier erwähnt werden; das Implantat blieb kümmerlich, deswegen wurde der Fall auch auf Tabelle I nicht zu den positiven Ergebnissen gezählt. 9 Tage nach der Operation zeigte die Larve bei Betrachtung von der ventralen Seite an Stelle des Implantats einen kleinen Kegel, dessen Spitze nach lateral und ein wenig nach vorn gerichtet war, bei dorsaler Betrachtung wurde das Implantat von der normalen Gliedmaße überlagert. Die Form dieser auswachsenden implantierten Knospe war somit im Vergleich mit den mehr zylinderförmigen, länger gestreckten normalen Gliedmaßen nicht übereinstimmend, auch die Gesamtgröße war bedeutend kleiner, so daß in diesem Fall Entwicklungsstörung vorliegt, die das Ergebnis trüben muß. Nach weiteren 4 Tagen hatten die beiden normalen Gliedmaßen je ihre drei Finger entwickelt, während das Implantat nur ein stumpfes abgerundetes Gebilde darstellte und etwa so groß war wie der normale Humerus derselben Seite. Nach weiteren 8 Tagen hatten sich merkwürdigerweise an beiden normalen Extremitäten dieses Tieres symmetrische Deformitäten entwickelt in Form von vier nicht gleich langen, unregelmäßig gestalteten Fingern; erster und dritter Finger waren länglich, zweiter und vierter kümmerlich entwickelt, die Hand selbst war eigentümlich verbreitert. Zur selben Zeit fehlten am Implantat immer noch die Finger. Nach weiteren 5 Wochen war an der normalen linken Extremität eine Syndaktylie des 2. und 3. Fingers eingetreten, an der normalen rechten eine starke Verkrümmung des 2. Fingers nach medial. Zu dieser Zeit hatte sich an der Hand des implantierten Glieds ein sehr langer

zweiter Finger entwickelt, an dessen Basis zwei winzige Stummel senkrecht abstanden. Diese Fingerstellung blieb auch noch über zwei weitere Monate bestehen, im Laufe derer sich besonders der zweite in Verlängerung des Unterarms gelegene noch bedeutend verlängert hatte. Das Glied stand als Ganzes senkrecht vom Körper ab, so daß die Seitenqualität unklar blieb. Die Haltung der normalen rechten Extremität war auch nicht typisch, insofern als der Ellenbogen nach dorsal gekehrt war und dementsprechend die Vola nach hinten oben offen. Die Syndaktylie zwischen zweitem und drittem Finger der normalen linken Extremität hatte sich bedeutend verdickt. Somit stellt dieser Fall die merkwürdige Erscheinung einer beiderseitigen Mißbildung der normalen vorderen Extremitäten dar, ohne daß über die Ursache irgendwelche Angaben gemacht werden könnten.

Bei Nr. 45 entwickelten sich an der implantierten Gliedmaße frühzeitig statt drei Finger vier, von denen der zweite nicht, wie normal, der längste war, sondern der erste. Dieser war nach ventral gerichtet, der vierte nach dorsal, die Vola wurde nach vorn gehalten. Die Ausbildung des Gesamtgliedes als solches war sehr schwächlich, was vielleicht auch mit der geringen Lebensfähigkeit des Entnahmetiers zusammenhing, das nur sehr kümmerlich sich weiter entwickelt hatte. Die primäre Auswachsrichtung am 5. Tage nach der Operation war mehr seitlich von der Körperwand abstehend als nach vorn gerichtet. Jedenfalls ergab die Haltung der Hand bei Richtung der Vola nach vorn, wobei der erste Finger nach ventral, der vierte nach dorsal gerichtet ist, daß auf der rechten Körperseite eine solche Haltung nur von einer linken Hand eingenommen werden kann, eine rechte würde entweder die Vola nach vorn richten, dann aber den ersten Finger nach dorsal oder bei Richtung des ersten Fingers nach ventral die Vola nach hinten. Somit war also die Gliedmaße geblieben, was sie war, eine linke auf der rechten Körperseite.

Um so deutlicher konnte die Auswachsrichtung nach vorn in Nr. 46 beobachtet werden 10 Tage nach der Operation. Zu dieser Zeit zeigten sich hier auch schon die ersten beiden Fingeranlagen. Nach einer weiteren Woche war die Haltung der vollentwickelten implantierten Extremität zu der normalen rechten dieser Seite vollkommen spiegelbildlich, d. h. die Extremität hatte ihre Ursprungsseitenqualität beibehalten. Der Ellenbogen wurde nach vorn und ein wenig dorsalwärts gehalten, die Vola nach ventral und ein wenig nach vorn. Die Tatsache, daß die Seitenqualität nicht geändert war, ergab sich auch aus der Entwicklung der Finger, von denen der dritte, als letzter am ulnaren Rande, hier also am vorn gelagerten Rande zur Entwicklung gelangte. Zwischen der normalen rechten Extremitätenanlage und der implantierten Knospe war hier ein Zwischenraum von drei Somiten

belassen worden, so daß die nach vorn wachsende Gliedmaße den vor ihr liegenden Humerus der normalen nicht überkreuzen konnte.

Die Wahrung der Seitenqualität der Extremität ergab sich weiterhin einwandfrei aus Nr. 47. Hier wurde 3 Wochen nach vorgenommener Transplantation der Ellenbogen nach dorsal gehalten, die Vola nach vorn, eine Haltung, die auf der rechten Körperseite nur von der linken Gliedmaße eingenommen werden kann. Über die primäre Auswachsrichtung fehlte leider in diesem Fall ein Vermerk im Protokollbuch.

Eindeutige Beweise aber der festen Determination der Vorn-Hintenpolarität lieferten die drei nächsten Fälle.

Phot. Nr. 2. Fall Nr. 57. Heterotopische heteropleurale dd.-Transplantation. Schwanzknospenstadium. 5 Wochen nach der Operation. Der scharf nach vorn wachsende Humerus beweist die feste Determination der Vorn-Hintenpolarität. Die Extremität ist geblieben, was sie war, in diesem Fall eine rechte, die sich auf der linken Körperseite entwickelt hat.

Die Seitenqualität bei Nr. 57 war klar erkennbar an der Anlage der Finger. Der erste Finger lag am weitesten nach hinten, der dritte entwickelte sich zuletzt, und zwar am vorderen Rande der Hand. Eine derartige Reihenfolge der sich entwickelnden Finger ist somit der Reihenfolge an der gleichseitigen normalen Extremität gerade entgegengesetzt spiegelbildlich. Dieser Fall zeigt somit in Übereinstimmung mit Nr. 45 und 47, daß die Extremität geblieben war, was sie war, und weiterhin auf Grund der typischen Wachstumsrichtung nach vorn, daß die Vorn-Hintenpolarität fest determiniert sein muß. Sehr deutlich sind all diese Verhältnisse auf der Photographie Nr. 2 zu sehen, die 5 Wochen nach der Transplantation angefertigt wurde. Bemerkenswert ist der scharf nach vorn wachsende Humerus, der den normalen vor ihm liegenden überkreuzt, der Ellenbogen selbst steht nach vorn dorsal, der Ellenbogenwinkel ist dementsprechend nach hinten unten offen. Die völlig normal ausgebildete Hand zeigt den ersten Finger an ihrer radialen Seite, gerade in den Ellenbogenwinkel der normalen Extremität hinein gerichtet und den kleinsten Finger an der ulnaren Seite. Die Vola steht nach ventral und etwas nach vorn.

Diesem Fall reiht sich übereinstimmend Nr. 74 an. Auch hier wird der normale Humerus von dem nach vorn wachsenden implantierten Glied überkreuzt, der Ellenbogenwinkel ist nach hinten unten offen; der Ellenbogen selber steht nach vorn dorsal. Wie bei Nr. 57 ist auch die Vola nach vorn und etwas ventral gerichtet.

Das Ergebnis dieser Transplantationsart bestätigt somit hinsichtlich der festen Determination der Vorn-Hintenpolarität die Befunde

die *Harrison* bei *Amblystoma punct.* erhielt. Hier wuchsen unter 28 Fällen 21 in anterodorsaler Richtung aus, die anderen, bei denen keine bestimmte Auswachsrichtung zu beobachten war, ergaben abortive Glieder. Die Stellung der Ellenbogen variierte etwas in den einzelnen Fällen, jedoch war sie im allgemeinen dorsoanterior, wie auch in meinen Fällen.

Am deutlichsten tritt die Tatsache der festen Determination der Vorn-Hintenpolarität in Erscheinung bei Verpflanzungen von Extremitäten auf den Kopf. Die beiden hierher gehörigen Fälle seien deswegen an dieser Stelle besprochen. Die Operation wurde an fünf Larven ausgeführt, von denen drei bald nach dem Eingriff zugrunde gingen, bei den beiden andern, Nr. 30 und 54, wurde je die rechte

Phot. Nr. 3. Fall Nr. 30. Transplantation einer rechten Gliedmaßenknospe auf die linke Kopfseite unter Tausch von vorn und hinten. Schwanzknospenstadium. 2½ Monate nach der Operation. Die Extremität wächst typisch nach vorn infolge der festen Determination der Vorn-Hintenpolarität.

Phot. Nr. 4. Fall Nr. 54. Dieselbe Operation wie bei Fall Nr. 30; 1 Monat nach der Transplantation. Beide Fälle betreffen das Schwanzknospenstadium. Der Ellenbogenwinkel ist nach lateral offen, der dritte Finger am ulnaren Rande entwickelte sich medial bezogen auf die Längsachse des Tieres. Die Extremität ist eine vollentwickelte rechte und beweist mit ihrer Wachstumsrichtung die feste Determination der Vorn-Hintenpolarität.

Knospe auf die linke Kopfseite zwischen Auge und Kiemenwulst unter Tausch von vorn und hinten implantiert. Bei Nr. 30 wurde die Knospe fast noch in den Kiemenbereich hineingesetzt, jedenfalls viel mehr nach hinten als bei Nr. 54. Trotzdem wuchsen 10 Tage nach der Operation am hinteren Rande des Implantats die Kiemenbüschel heraus, so daß die hervorsprossende Extremität zwischen Kiemen und Auge zur Entwicklung gelangte. Die Auswachsrichtung war typisch nach vorn lateral. Nach insgesamt 14 Tagen zeigte der Stummel bereits eine Andeutung eines nach hinten-lateral offenen Ellenbogenwinkels, so daß die Seitenqualität dieser Gliedmaße als herkunftsgemäß zu bezeichnen wäre. Allerdings blieb das Glied insofern rudimentär, als keine eigentliche Fingerbildung stattfand, so daß dieser Fall eben nur beweisend sein soll für die erwähnte feste Determination der Vorn-Hintenpolarität, die sich in der Wachstumsrichtung nach vorn zu erkennen gab, wie Phot. Nr. 3 deutlich zeigt. Erwähnt werden

soll noch, daß es gelang an durchleuchteter Extremität die Blutzirkulation in dieser Gliedmaße zu beobachten. Der Blutstrom trat an vorderen Rande der Gliedmaße ein, bewegte sich diesen Rand entlang bis fast zur Spitze und kehrte am hinteren Rand wieder zum Kopf zurück. Blieb das Tier länger in Chloretonnarkose, so verlangsamte sich der Blutstrom etwas, auch nahm die Zahl der kreisenden Erythrocyten ab, während im Gegensatz hierzu die Zirkulation in den Kiemen mit derselben Geschwindigkeit wie früher vor sich ging.

Sehr klar ist das Ergebnis des Falles Nr. 54. Bereits 6 Tage nach der Operation ist der hinterste Abschnitt des linken Auges vom vorderen Rand des auswachsenden Stummels überdeckt, und nach weiteren 3 Tagen sind die beiden ersten Finger am distalen Ende der Gliedmaße sichtbar, zugleich auch die Anlage des dritten Fingers am ulnaren Rande, der in diesem Falle medial liegt. Die Pigmentfleckchen auf der Dorsalseite sind deutlich. Nach weiteren 4 Tagen, also insgesamt 13 Tage nach der Operation, ist der nach dorsomedial stehende Ellenbogen deutlich ausgeprägt, zugleich sind auch die 3 Finger entwickelt, von denen der dritte, kleinste, medial steht. An der Seitenqualität der Gliedmaße kann somit nicht gezweifelt werden, sie ist eine rechte geblieben und wächst in typischer Weise nach vorn, wobei sie das linke Auge des Tieres von dorsal völlig zudeckt. Vgl. Phot. Nr. 4.

4. Heterotopische heteropleurale dorsoventrale Transplantation.

Bei dieser Operationsart wird die Knospe unter Tausch von dorsal und ventral hinter die normale Knospe der andern Seite implantiert.

Die Ergebnisse müssen insofern von großer Wichtigkeit sein, weil gerade hier bei *Amblystoma* die Inversion der dorsoventralen Polarität am deutlichsten in Erscheinung tritt, eine ursprünglich rechte Knospe auf der linken Seite des Tieres in eine linke umgewandelt wird und umgekehrt. Es fragt sich demnach, ob *Triton* auch dieselbe Eigentümlichkeit zeigt.

Insgesamt wurden 23 Operationen ausgeführt, von denen 9 ein positives Resultat lieferten. Von diesen entwickelten sich 4 mal einheitliche Extremitäten, 5 mal Verdoppelungen, 9 Larven gingen zugrunde, 4 mal entstanden verkümmerte Gliedmaßen und eine Larve wurde zu anderen Zwecken fixiert.

Bei Nr. 44 hatte sich 6 Wochen nach der Operation eine deformierte Extremität gebildet mit mißgebildeter Hand und sehr spitzem, ca. 20° betragendem Ellenbogenwinkel. Deswegen kann dieser Fall nicht zur Beantwortung des vorliegenden Problems herangezogen werden, doch besteht die Möglichkeit, auf Grund des nach hinten

offenen Ellenbogenwinkels die Extremität im Sinne der später zu besprechenden klaren Fälle zu deuten. Die Hand besaß 4 mißgebildete Finger, die als kurze Stummelchen dem zugespitzten kegelförmigen Ende des Unterarms seitlich ansaßen. Die Extremität im ganzen war auch im Vergleich zu der normalen gleichseitigen bedeutend kleiner.

Viel deutlicher ist das Ergebnis in Nr. 65. Die Photographie Nr. 5 gibt den Stand der Entwicklung des Gliedes 4 Wochen nach vorgenommener Transplantation wieder. Die Reihenfolge der sich entwickelnden Finger geschah in der Weise, daß der letzte, kleinste, sich am ulnaren Rande der Hand entwickelte, der in diesem Fall vorn lag, d. h. die Extremität war ein Spiegelbild der vor ihr liegenden normalen linken, hatte also ihre Seitenqualität gewahrt und war eine rechte geblieben. Für diese Tatsache spricht auch der nach hinten offene Ellenbogenwinkel. Daß die Hände bei diesem Tier 4 Finger besaßen, beruht auf der bereits schon früher erwähnten Eigentümlichkeit, daß mit dem Beginn des Aussprossens der hinteren Extremität ein vierter Finger an der Hand sich zu entwickeln beginnt. Die beiden hinteren Extremitäten sind auf der Photographie als zwei kleine, weiße, scharf nach hinten wachsende Stummelchen zu erkennen. Leider fehlen bei diesem Fall die Angaben über die primäre Auswachsrichtung im Protokollbuch.

Phot. Nr. 5. Fall Nr. 65. Heterotopische heteropleurale dv.-Transplantation. Schwanzknospenstadium. Entgegen den Befunden bei *Amblystoma* blieb die Ursprungsseitenqualität der Gliedmaße gewahrt. Es entwickelte sich ein rechtes Glied auf der linken Seite.

Um nun einen völlig klaren Überblick über die Gesamtbildung des Implantats und seine fortschreitende Entwicklung zu erhalten, wurden bei ein und derselben Larve in bestimmten Zeitabständen Photographien angefertigt. Eine Reihenfolge derartiger Bilder geben die Phot. Nr. 6, 7, 8 des Falles Nr. 77 wieder. Bereits 8 Tage nach der Operation ist die Auswachsrichtung der implantierten Knospe nach hinten unten deutlich sichtbar zum Unterschied von der Auswachsrichtung der normalen Knospe nach hinten oben. Phot. Nr. 6 zeigt diese Wachstumsrichtung des Implantats und gibt auch zu erkennen, wie die dorsale Seite der Knospe in ähnlicher Weise wie die der normalen linken Knospe pigmentiert ist. Diese Pigmentation war schon 2 Tage nach der Operation in Form zartester Pünktchen zu erkennen, die nach weiteren 3 Tagen nachdunkelten und an Größe zugenommen hatten. Nach weiteren 4 Tagen, also insgesamt 12 Tage nach der Operation, hatten sich am distalen Ende des größer gewordenen Stummels die beiden ersten Finger entwickelt, zugleich auch mit denen des

soll noch, daß es gelang an durchleuchteter Extremität die Blutzirkulation in dieser Gliedmaße zu beobachten. Der Blutstrom trat am vorderen Rande der Gliedmaße ein, bewegte sich diesen Rand entlang bis fast zur Spitze und kehrte am hinteren Rand wieder zum Kopf zurück. Blieb das Tier länger in Chloretonnarkose, so verlangsamte sich der Blutstrom etwas, auch nahm die Zahl der kreisenden Erythrocyten ab, während im Gegensatz hierzu die Zirkulation in den Kiemen mit derselben Geschwindigkeit wie früher vor sich ging.

Sehr klar ist das Ergebnis des Falles Nr. 54. Bereits 6 Tage nach der Operation ist der hinterste Abschnitt des linken Auges vom vorderen Rand des auswachsenden Stummels überdeckt, und nach weiteren 3 Tagen sind die beiden ersten Finger am distalen Ende der Gliedmaße sichtbar, zugleich auch die Anlage des dritten Fingers am ulnaren Rande, der in diesem Falle medial liegt. Die Pigmentfleckchen auf der Dorsalseite sind deutlich. Nach weiteren 4 Tagen, also insgesamt 13 Tage nach der Operation, ist der nach dorsomedial stehende Ellenbogen deutlich ausgeprägt, zugleich sind auch die 3 Finger entwickelt, von denen der dritte, kleinste, medial steht. An der Seitenqualität der Gliedmaße kann somit nicht gezweifelt werden, sie ist eine rechte geblieben und wächst in typischer Weise nach vorn, wobei sie das linke Auge des Tieres von dorsal völlig zudeckt. Vgl. Phot. Nr. 4.

4. Heterotopische heteropleurale dorsoventrale Transplantation.

Bei dieser Operationsart wird die Knospe unter Tausch von dorsal und ventral hinter die normale Knospe der andern Seite implantiert.

Die Ergebnisse müssen insofern von großer Wichtigkeit sein, weil gerade hier bei *Amblystoma* die Inversion der dorsoventralen Polarität am deutlichsten in Erscheinung tritt, eine ursprünglich rechte Knospe auf der linken Seite des Tieres in eine linke umgewandelt wird und umgekehrt. Es fragt sich demnach, ob *Triton* auch dieselbe Eigentümlichkeit zeigt.

Insgesamt wurden 23 Operationen ausgeführt, von denen 9 ein positives Resultat lieferten. Von diesen entwickelten sich 4mal einheitliche Extremitäten, 5mal Verdoppelungen, 9 Larven gingen zugrunde, 4mal entstanden verkümmerte Gliedmaßen und eine Larve wurde zu anderen Zwecken fixiert.

Bei Nr. 44 hatte sich 6 Wochen nach der Operation eine deformierte Extremität gebildet mit mißgebildeter Hand und sehr spitzem, ca. 20° betragendem Ellenbogenwinkel. Deswegen kann dieser Fall nicht zur Beantwortung des vorliegenden Problems herangezogen werden, doch besteht die Möglichkeit, auf Grund des nach hinten

offenen Ellenbogenwinkels die Extremität im Sinne der später zu besprechenden klaren Fälle zu deuten. Die Hand besaß 4 mißgebildete Finger, die als kurze Stummelchen dem zugespitzten kegelförmigen Ende des Unterarms seitlich ansaßen. Die Extremität im ganzen war auch im Vergleich zu der normalen gleichseitigen bedeutend kleiner.

Viel deutlicher ist das Ergebnis in Nr. 65. Die Photographie Nr. 5 gibt den Stand der Entwicklung des Gliedes 4 Wochen nach vorgenommener Transplantation wieder. Die Reihenfolge der sich entwickelnden Finger geschah in der Weise, daß der letzte, kleinste, sich am ulnaren Rande der Hand entwickelte, der in diesem Fall vorn lag, d. h. die Extremität war ein Spiegelbild der vor ihr liegenden normalen linken, hatte also ihre Seitenqualität gewahrt und war eine rechte geblieben. Für diese Tatsache spricht auch der nach hinten offene Ellenbogenwinkel. Daß die Hände bei diesem Tier 4 Finger besaßen, beruht auf der bereits schon früher erwähnten Eigentümlichkeit, daß mit dem Beginn des Aussprossens der hinteren Extremität ein vierter Finger an der Hand sich zu entwickeln beginnt. Die beiden hinteren Extremitäten sind auf der Photographie als zwei kleine, weiße, scharf nach hinten wachsende Stummelchen zu erkennen. Leider fehlen bei diesem Fall die Angaben über die primäre Auswachsrichtung im Protokollbuch.

Phot. Nr. 5. Fall Nr. 65. Heterotopische heteropleurale dv.-Transplantation. Schwanzknospenstadium. Entgegen den Befunden bei *Amblystoma* blieb die Ursprungsseitenqualität der Gliedmaße gewahrt. Es entwickelte sich ein rechtes Glied auf der linken Seite.

Um nun einen völlig klaren Überblick über die Gesamtbildung des Implantats und seine fortschreitende Entwicklung zu erhalten, wurden bei ein und derselben Larve in bestimmten Zeitabständen Photographien angefertigt. Eine Reihenfolge derartiger Bilder geben die Phot. Nr. 6, 7, 8 des Falles Nr. 77 wieder. Bereits 8 Tage nach der Operation ist die Auswachsrichtung der implantierten Knospe nach hinten unten deutlich sichtbar zum Unterschied von der Auswachsrichtung der normalen Knospe nach hinten oben. Phot. Nr. 6 zeigt diese Wachstumsrichtung des Implantats und gibt auch zu erkennen, wie die dorsale Seite der Knospe in ähnlicher Weise wie die der normalen linken Knospe pigmentiert ist. Diese Pigmentation war schon 2 Tage nach der Operation in Form zartester Pünktchen zu erkennen, die nach weiteren 3 Tagen nachdunkelten und an Größe zugenommen hatten. Nach weiteren 4 Tagen, also insgesamt 12 Tage nach der Operation, hatten sich am distalen Ende des größer gewordenen Stummels die beiden ersten Finger entwickelt, zugleich auch mit denen des

normalen vor ihm liegenden linken Gliedes. Bereits schon in diesem frühen Stadium ist deutlich zu erkennen, wie die Finger der normalen linken Extremität infolge einer leichten Konvexität des hinteren Randes des Gliedes ihre Wachstumsrichtung nach vorn nehmen, während die des Implantats umgekehrt infolge einer Konvexität des Vorderrandes des Gliedes gerade nach hinten wachsen. Diese Verhältnisse läßt Photographie Nr. 7 klar erkennen. An beiden Gliedmaßen kann man auch schon an ihrem ulnaren Rande die Anlage des dritten Fingers erkennen in Form eines kleinen rundlichen Buckels. Diese Anlagen der dritten Finger sind einander zugekehrt, d. h. die Extremität entwickelt sich spiegelbildlich. Nach weiteren 9 Tagen ist die Extremität der implantierten Knospe zu einer einheitlichen Vollextremität aus-

Phot. Nr. 6. Fall Nr. 77. Die Phot. Nr. 6, 7, und 8 sind an derselben Larve in bestimmten Zeitabschnitten aufgenommen. Heterotopische heteropleurale dv.-Transplantation. Schwanzknospenstadium. Diese Phot. Nr. 6 zeigt deutlich die Auswachsrichtung des Implantats nach hinten, zugleich die Pigmentation der Dorsalseite.

Phot. Nr. 7. Fall Nr. 77. 4 Tage später als Phot. Nr. 6. Man erkennt an der verschiedenen Wachstumstendenz der Finger und der einander zugekehrten konvexen Ränder der normalen linken und der implantierten Knospe, daß die Entwicklung der beiden Gliedmaßen spiegelbildlich zueinander verläuft.

Phot. Nr. 8. Fall Nr. 77. 9 Tage später als Phot. Nr. 7. Die implantierte Gliedmaße ist völlig normal entwickelt, sie ist eine rechte geblieben. Die Inversion der Seitenqualität, die bei dieser Operationsart bei *Amblystoma* auftritt, ist bei *Triton* nicht feststellbar.

gewachsen und besitzt in ihrer Formausbildung nicht den geringsten Defekt. Das spiegelbildliche Verhalten der beiden Gliedmaßen ist jetzt einwandfrei hergestellt. Die Extremität ist geblieben, was sie war, und der Unterschied gegenüber den Befunden, die *Harrison* bei *Amblystoma* erhielt, fällt gerade durch Vergleich dieser Photographie Nr. 8 mit der von *Harrison* S. 24, Abb. 27 seiner Arbeit sofort auf. Besonders deutlich ist bei Seitenansicht der Larve die genauere Haltung des Humerus zur Körperwand erkennbar. Der Oberarm der normalen linken Extremität ist mehr nach hinten oben, der des implantierten Gliedes nach hinten unten gerichtet. Diese Tatsache des Auswachsens derartig implantierter Glieder nach hinten unten ist aus der Photographie Nr. 9 des nächsten Falles Nr. 84 in Seitenlage besonders deutlich ersichtlich.

Das erste Auftreten des Pigmentes war auch hier wie im vorhergehenden Fall 2 Tage nach der Operation sichtbar in Form zartester

Pünktchen, die sich über den ganzen Rücken der Larve hinweg erstreckten und am deutlichsten am Kopf und der Dorsalfläche der Kiemen ausgeprägt waren. Auch die Knospen der normalen Extremitäten und des Implantats zeigten die ersten Spuren auf ihrer dorsalen Seite. 9 Tage nach der Operation hatte sich an der normalen linken Extremität die Pigmentation in Form dreier Pünktchen konzentriert, von denen zwei an der Basis des Gliedes, eins auf der Mitte der Dorsalseite lagen. Zum Unterschied von dieser Anordnung beschränkte sich am Implantat die Lagerung des Pigments lediglich auf den vorderen Rand des Stummels. Diese Lagerung des Pigments ist nicht etwa zufällig, sondern der Ausdruck bestimmter Entwicklungsvorgänge, die sich an der implantierten Extremität vollziehen. Ehe auf diesen Punkt weiter eingegangen werden soll, möge auf die Photographie Nr. 9 verwiesen werden. Die Richtung der auswachsenden implantierten Knospe nach hinten und zugleich nach unten ist deutlich sichtbar. Der normale vordere linke Gliedmaßenstumpf deckt in dieser Lage die Basis des Implantats mit seiner Spitze zu, letztere bedeckt hier gerade teilweise den stärksten Pigmentfleck an der Basis des Implantats. Infolge dieser Lagerung ist der normale linke Gliedmaßenstumpf auf der Photographie schwer zu erkennen. Jedenfalls ist dessen Auswachsrichtung viel mehr nach hinten oben gerichtet als die des Implantats. Daß sich in diesem Fall an der normalen linken Extremität schon die ersten beiden Finger zeigten, am Implantat aber nicht, beruht auf einer verzögerten Entwicklung des letzteren, das sich auch nur zu einer sehr schmächtigen und grazil gebauten Extremität auswuchs. Diese legte sich später der Seitenwand des Körpers ziemlich eng an und hatte als Ausdruck ihrer gewahrten Seitenqualität den Ellenbogenwinkel nach hinten und medial offen.

Phot. Nr. 9. Fall Nr. 84. Heterotopische heteropleurale dv.-Transplantation. Schwanzknospenstadium. Die Wachstumsrichtung des Implantats nach hinten unten ist deutlich sichtbar. Der normale Gliedmaßenstummel davor ist bei dieser Seitenlage kaum sichtbar, weil sich seine Farbe und Umrisse vom Untergrund zuwenig abheben.

Was die Fälle anbetrifft, wo sich kümmerliche Gliedmaßen bildeten, Nr. 78, 79, 93 und 130, so entwickelte sich einmal ein dem Körper anliegender schmächtiger Stumpf, der nach hinten unten wuchs, keinen Ellenbogenwinkel bildete und sich am Ende in eine handähnliche Bildung aufsplitterte. Das zweite Mal entstand ein spitz zulaufender Stumpf, der nach hinten wuchs und am Ende nach unten abbog; die Gesamtlänge des Stumpfes erreichte nicht einmal die des normalen Humerus. Im dritten Fall wuchs der Stumpf ebenfalls nach hinten

unten; im vierten endlich anfänglich mehr nach oben, bog aber dann scharf spitzwinklig nach unten ab, ohne Finger zu bilden.

Zusammenfassend ergibt sich aus diesen heterotopischen heteropleuralen dv. Transplantationen ein Ergebnis, das mit dem, welches *Harrison* bei *Amblystoma* erhielt, *nicht* übereinstimmt. Besonders der Fall Nr. 77 läßt deutlich die Weiterentwicklung der implantierten Knospe erkennen, ihre Ausbildung zu einer wirtsseitenverkehrten Extremität. Erfolgte bei *Amblystoma* eine vollständige Inversion der Seitenqualität, d. h. wuchsen z. B. an der linken Seite der Larve in diesem Fall zwei linke Extremitäten aus, so blieb bei *Triton* die implantierte Extremität das, was sie war, und es entstanden somit auf der linken Seite die normale linke und dahinter eine normale rechte, deren Ellenbogenwinkel nach hinten offen war. Dieser Unterschied wird klar durch Vergleich meiner Phot. Nr. 8 und der von *Harrison* S. 24, Abb. 27. *Harrison* führte von dieser Transplantationsart 60 Operationen aus. Von diesen starben 20, 16 ergaben abortive Glieder, 24 blieben für die Beobachtung der Entwicklung übrig. Von letzteren waren 8 unvollständig, 6 brachten Verdoppelungen und nur 9 einfache Glieder, von denen manche aber defekt waren und leichte Grade von Verdoppelungen zeigten. Im Gegensatz zu meinen Beobachtungen bei *Triton* war die Entwicklung der einzelnen Glieder so wie die der homopleural dorsodorsal implantierten Knospen, d. h. sie wuchsen nach hinten oben aus und entwickelten sich in Gliedmaßen von normaler Stellung.

An dieser Stelle möchte ich die Auffassung von *Wilhelmi* erwähnen, der ich nicht beipflichten kann, wie ich schon auf dem Heidelberger Anatomenkongreß 1923 betonte. *Wihelmi* hat bei *Triton taeniatus* an 30 Objekten die gleichnamige Extremitätenanlage auf den Bauch der Larve implantiert, um zu beobachten, ob sich ein gegenseitiger Einfluß zwischen diesen beiden Extremitäten geltend macht im Sinne eines symmetrischen Wachstums. Nur bei einem Tier gelangten beide Extremitäten zur Entwicklung, aber auch hier nur bis zur Bildung der beiden ersten Finger. Auf Grund dieses einen Falles, der noch dazu kümmerliche Extremitäten bildete, ist meiner Ansicht nach die Beantwortung einer Frage nicht zu geben. Ich kann auch auf Abb. 12 ihrer Arbeit nicht erkennen, daß „die vordere Extremität ihre Lateralität beibehalten hat, während die hintere invertiert ist". Klarheit kann nur Beobachtung sämtlicher Entwicklungsstadien geben vom Beginn des Aussprossens der jungen Knospe an bis zum Auswachsen zu einer voll entwickelten normalen Extremität mit ihren drei Fingern, von denen ganz besonderes Augenmerk auf die Entstehung des letzten dritten Fingers am ulnaren Rande zu richten ist, weil dieser einen wichtigen Hinweis gibt auf die Lateralität der betreffenden Gliedmaße.

Meine Photographien 6, 7 und 8 z. B. sind in dieser Absicht hergestellt und beweisen, daß *keine* Inversion der dorsoventralen Polarität eintritt.

Wenn also durch Inversion bei *Amblystoma* aus rechts links wird und diese Inversion bei *Triton* ausbleibt, so müßte bei der angegebenen Operationsart die *Triton*-Extremität immer so zu liegen kommen, daß die unpigmentierte Volarseite nach oben sieht. Die Transplantation hat ja gewissermaßen, wenn man sich so ausdrücken darf, von der einen Seite auf die andere über den Rücken der Larve stattgefunden, vgl. Abb. 3 in *Braus*, „Neuere Ergebnisse der Gliedmaßenpfropfungen", Naturwissenschaften H. 19; 1922. Somit stößt die Erklärung der Lage der Extremität, wie sie z. B. Nr. 65 und 77 (Phot. Nr. 5 und 8) deutlich zeigt, auf eine weitere Schwierigkeit. Wenn derartig fest determinierte Extremitäten, die nicht mehr invertiert werden können, nicht ihre Volarseite nach oben kehren, sondern ihre normale Dorsalseite, so können sie diese Lage nur durch Drehung, durch Rotation einnehmen. Daß diese Rotation bei den Urodelen tatsächlich vorkommt, beweisen die orthotopischen Transplantationen, deren Einzelheiten in einer weiteren Arbeit zur Besprechung gelangen. *Harrison* hat einwandfreie Abbildungen dieses Vorganges in seiner Arbeit gegeben (vgl. Abb. 56—59, S. 38). Gerade dann tritt diese Rotation bei *Amblystoma* auf, wenn eine Extremitätenknospe in loco um 180° gedreht wird, wenn also bei festgelegter Vorn-Hintenpolarität eine Inversion nicht mehr möglich ist. Es fragt sich nun, warum bei *Amblystoma* die heterotopisch um 180° gedrehten Knospen nicht auch zurück rotieren. Hier könnte als Erklärung die völlig normale Nervenversorgung der orthotopisch transplantierten Extremität herangezogen werden, die zu einer funktionierenden Gliedmaße führt, was heterotopisch niemals eintritt. Eine nach vorn gerichtete Extremität, wie sie sich bei diesen Transplantationsformen heterotopisch entwickelt, würde orthotopisch jede Funktion unmöglich machen. Betont werden muß noch, daß derartig um 180° gedrehte und heterotopisch implantierte Gliedmaßen bei *Amblystoma* zugleich ihre Seitenqualität abändern durch Inversion der dorsoventralen Polarität; es sind also nach vorn wachsende wirtsseitenverkehrte. Durch diese Inversion kommt die dorsale pigmentierte Seite so wie so nach dorsal zu liegen. Diese Inversion kommt, wie erwähnt, orthotopisch nicht zur Entwicklung, weil die Extremität als solche wieder rückwärts rotiert, wodurch ja an und für sich schon die dorsale Seite wieder nach dorsal zu liegen kommt. Zweifellos liegt all diesen Vorgängen ein bestimmtes Wachstum zugrunde, das die ursprüngliche normale dorsoventrale Orientierung wiederhergestellt, sei es durch Inversion, wenn die Polarität noch nicht determiniert ist, sei es durch Rotation, wenn bestimmte

Milieuverhältnisse, wie die in loco wirksamen, diesen Vorgang gewissermaßen überflüssig machen oder wenn eine Inversion unmöglich ist, weil die in Frage stehende Polarität fest determiniert ist. Die Erscheinung, daß bei *Triton* bei der hier vorliegenden heterotopischen heteropleuralen dv. Orientierung die Gliedmaße im Gegensatz zu *Amblystoma* bleibt, was sie war, beweist, daß eben die dv. Polarität fest determiniert ist und daher eine Inversion ganz unmöglich ist. Ganz charakteristisch ist ein Vergleich der Auswachsrichtung derartiger Knospen bei den beiden Urodelenarten. Bei *Amblystoma* wird durch Inversion die Extremität wirtsseitengleich, wächst daher auch nach *hinten oben*, wie eine normale, bei *Triton* aber bleibt sie, was sie ist, wächst daher nach *hinten unten*, wie deutlich Phot. Nr. 9 zeigt; denn der hintere obere Quadrant der Extremitätenknospe ist durch die Transplantation nach hinten unten gekommen. Bereits also schon in diesem so frühen Entwicklungsstadium läßt sich der Unterschied zwischen *Triton* und *Amblystoma* erkennen.

Was den Rotationsvorgang anbetrifft, so zeigen genauere Beobachtungen des Falles 84, Phot. Nr. 9, daß sich diese Rotation schon sehr frühzeitig in manchen Eigentümlichkeiten, besonders an der Lage des Pigmentes, bemerkbar macht. Das Pigment, das bei anfänglicher Lage der Dorsalseite nach volar am Stummel unten liegen würde, wanderte mit der Drehung des Stummels nach oben, und zwar über den vorderen Rand hin. Man sieht auf der Phot. Nr. 9 des Falles Nr. 84 deutlich die Pigmentzone am vorderen Rand der auswachsenden implantierten Knospe, während an der normalen Gliedmaße große dicke Pigmentflecken mehr in der Mitte des Stummels aufgetreten sind. Diese Rotation des Stummels um seine Längsachse tritt jedenfalls außerordentlich frühzeitig ein. Unterbleibt sie, wie dies wiederholt im vorhergehenden in pathologischen Fällen beschrieben worden ist, die keine Vollextremitäten, sondern nur rudimentäre, unterentwickelte Glieder lieferten, so kommt auch stets die unpigmentierte Volarseite nach oben zu liegen; dementsprechend liegt der radiale Rand der Extremität ganz anders, wie bei einer rotierten Vollextremität. Diese Tatsache muß besonders bei der Entstehung von sekundären Sprossen beachtet werden. Letztere geben aber hier zugleich auch einen wichtigen Hinweis auf die wahre Stellung der Extremität am Körper.

Das Hauptergebnis aller bisher besprochenen heterotopischen Transplantationen liegt in dem Nachweis der festen Determination sowohl der Vorn-Hintenpolarität wie der dorsoventralen Polarität einer Extremitätenknospe des Schwanzknospenstadiums bei Triton taeniatus. Es fragt sich nun, ob das verschiedene biologische Verhalten von Triton und Amblystoma bezüglich der Inversionsmöglichkeit der dorsoventralen Polarität

der Extremitätenknospe auf ein und dieselbe Ursache, nämlich den Vorgang der Determination, zurückgeführt werden könnte.

Ich habe bereits auf dem Heidelberger Anatomenkongreß im April 1923 meine diesbezügliche Auffassung entwickelt, die, kurz zusammengefaßt, folgende ist: *Spemanns* Versuche mit Austausch von Ectoderm verschiedener Herkunft zu Beginn und während der Gastrulation und andererseits nach abgelaufener Gastrulation beweisen, wie geringe zeitliche Unterschiede im Entwicklungsgrad von ausschlaggebender Bedeutung für das Endergebnis der Transplantation sind. *Gräpers* Transplantationen revertierter Glieder führten ihn zu der Auffassung einer Querschnittsdetermination und einer von ihr zeitlich verschiedenen Polaritätsdetermination. Man muß annehmen, daß die Determination zu bestimmter Zeit beginnt, ihren Ablauf nimmt, innerhalb dieses Verlaufs beeinflußbar ist und von einem bestimmten Zeitpunkt an unabänderlich fixiert bleibt. Hierin liegt die ganze Bedeutung des *Zeitfaktors*, deren Wertung für die Erkenntnis von Entwicklungsvorgängen, wie in der Einleitung dieser Arbeit betont wurde, ebenso notwendig ist wie die des Raumfaktors.

Speziell angewandt auf die Extremitätenknospe einer Larve im Schwanzknospenstadium würde die Determination der dorsoventralen Polarität einer *Amblystoma*-Knospe einen zeitlich sich länger hinziehenden Vorgang darstellen als die Determination einer *Triton*-Knospe. Mit anderen Worten: Im Schwanzknospenstadium ist die Determination der dv. Polarität bei *Triton* bereits längst festgelegt, abgelaufen, daher keine Inversion mehr möglich bei heterotopischer heteropleuraler dv. Operation, die Extremität bleibt, was sie war; bei *Amblystoma* dagegen ist die Determination nicht abgelaufen, sie ist noch im Fluß, daher noch beeinflußbar durch Milieueinflüsse, daher auch Inversion möglich bei derselben Operationsart. Auf Grund dieses bei nahe verwandten Tierarten *zeitlich verschiedenen* Ablaufs der Determination habe ich den Begriff der *„Individuellen Entwicklungskurve der Determination"* aufgestellt. *Gräpers* Experimente beweisen, daß es Entwicklungsstadien gibt, bei denen die Reaktion gewissermaßen umschlagen kann; tut sie es nicht, so bleibt die Extremität wirtsseitenverkehrt, tut sie es, so wird sie invertiert und wirtsseitenrichtig.

In meinem Heidelberger Vortrag habe ich auch die determinativen Beziehungen des Augenbechers zur Linse, die Mögljchkeit der Umwandlung verschieden ausgedehnter Ectodermzonen zur Linse, alles Beziehungen, die bei den einzelnen Amphibienarten verschieden sind, im Lichte dieser chronologischen Auffassung der Determination zu erklären versucht.

Es ergibt sich somit die notwendige Schlußfolgerung, daß, wenn *Triton* im Schwanzknospenstadium Extremitätenknospen mit abge-

schlossener Determination besitzt, letztere vielleicht in einem viel früheren Entwicklungsstadium noch nicht fixiert zu sein braucht, und sich hier vielleicht im frühesten Neurulastadium das *Harrison*sche Ergebnis bestätigen läßt. Experimente an möglichst jungen Eiern von *Triton* könnten daher die beste Aussicht auf Erfolg liefern.

Hier wären die interessanten Ergebnisse von *Milojević* über Transplantation von Beinregeneraten bei *Triton cristatus* zu erwähnen. *Milojević* stellte fest, daß schon in den ersten Entwicklungsstadien des Regenerats alle drei Achsen gleichzeitig bestimmt werden. Ist das Gewebe höchstens 10 Tage alt und die Höhe der Knospe viel kleiner als der Durchmesser ihrer Basis, so entwickelt sich das orthotopisch verpflanzte Regenerationsgewebe *ortsgemäß*, älteres hingegen ausschließlich *herkunftsgemäß*. Heterotopisch transplantierte Regenerate wurden resorbiert, wenn sie noch nicht determiniert sind, entwickeln sich aber herkunftsgemäß, wenn sie determiniert sind.

Auch aus diesen Versuchen folgt wie aus den *Spemann*schen Versuchen, daß der *Zeitfaktor*, der sich in einem bestimmten Alter der Zellen realisiert, von größter Wichtigkeit ist für den Verlauf eines Entwicklungsvorganges.

II. Kapitel.

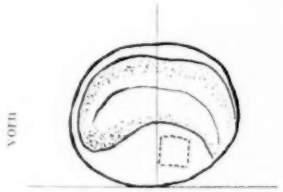
Transplantation von Extremitätenbildungsmaterial bei Triton taeniatus im Neurulastadium (Stadium C Ekman) Skizze 1.

Die nachfolgenden Untersuchungen wurden im Frühjahr 1923 an 91 Eiern ausgeführt, von denen 86 sich im Stadium C (*Ekman*) befanden[1]). Es ist dies das jüngste Stadium der Eientwicklung, in dem überhaupt bisher an Amphibieneiern Transplantationen von Extremitätenbildungsmaterial vorgenommen wurde. Die auf das jüngste Stadium zurückgehenden Experimente von *Detwiler* 1918 am *Amblystoma*-Ei „in the stage of high medullars folds" beziehen sich auf das Stadium I (*Ekman* 1922), in dem am Ei deutliche Medullarwülste zu sehen sind, das Medullarrohr aber noch offen ist. Im Stadium C sind die Medullarwülste gerade eben sichtbar geworden. Um noch deutlicher zu zeigen, an welchen Stadien operiert wurde, sind auf den Skizzen 1, 2, 3 Stadium C, Stadium I und das Schwanzknospenstadium von *Triton taeniatus* zum Vergleich nebeneinander gestellt.

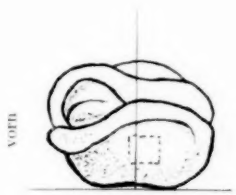
Das „Wandern" von Epithelmassen von hinten nach vorn bringt es mit sich, daß das Extremitätenbildungsmaterial, das im Schwanzknospenstadium vor der dorsoventralen Mittellinie des Keimes dicht hinter den Kiemenwülsten liegt, im Stadium I und noch viel mehr im Sta-

[1]) Um Verwechslungen mit den Protokollnummern des Schwanzknospenstadiums vorzubeugen, wurde in der Arbeit hinter den Abbildungen der jetzt folgenden Fälle stets die Jahreszahl 1923 gesetzt.

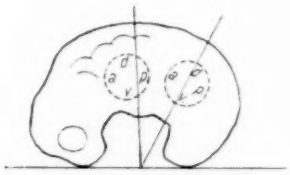
dium C hinter dieser Linie zu suchen ist. *Detwiler* entnahm daher an seinen Keimen eine ca. $3^1/_2$ Somiten breite Zellmasse, die bei *Amblystoma* 0,66—0,93 mm beträgt, hinter dieser Mittellinie und verpflanzte sie unter den $^1/_2$ 5., 6., 7. und $^1/_2$ 8. Somiten eines anderen Keimes. Die Größe von $3^1/_2$ Somiten war natürlich am Schwanzknospenstadium ausgemessen, da Stadium C und I derartige Formeinheiten noch nicht erkennen lassen.



Skizze 1.



Skizze 2.



Skizze 3.

Skizze 1, 2 und 3 sind Skizzen der drei verschiedenen zur Operation gekommenen Entwicklungsstadien. Die Senkrechte stellt die dorsoventrale Mittellinie dar, man erkennt die Lage des Extremitätenbildungsmaterials, das in den einzelnen Stadien immer mehr nach vorn wandert.

Skizze 1. Stadium C (*Ekman*) von *Triton taeniatus*. In diesem Entwicklungsstadium ist die dorsoventrale Polarität des Extremitätenbildungsmaterials noch nicht determiniert, die Lateralität der Extremität kann daher noch invertiert werden. (Phot. 11, 12, 13.) Sämtliche Angaben des II. Kapitels der Arbeit beziehen sich auf dieses Stadium. Das Extremitätenbildungsmaterial, auf der Abb. in Form eines punktierten Quadrates dargestellt, liegt hinter der dorsoventralen Mittellinie.

Skizze 2. Stadium I (*Ekman*) von *Triton taeniatus*. Das Extremitätenbildungsmaterial hat die dorsoventrale Mittellinie nach vorn überschritten.

Skizze 3. Schwanzknospenstadium von *Triton taeniatus*, vgl. hierzu Phot. Nr. 1. Die Skizze gibt zugleich die Lage der Pole der normalen (vorderer punktierter Kreis) und der implantierten (hinterer punktierter Kreis) Knospe an. Die vordere der beiden Senkrechten ist die dorsoventrale Mittellinie, die das hintere Drittel der normalen Knospe durchschneidet. In diesem Entwicklungsstadium ist die dorsoventrale Polarität der Extremitätenknospe fest determiniert, die Extremität kann daher nicht mehr invertiert werden (Phot. 5 bis 9). Sämtliche Angaben des I. Kapitels der Arbeit beziehen sich auf dieses Stadium.

Von den erwähnten 86 Operationen im Stadium C beziehen sich allein 56 nur auf die heterotopisch heteropleurale dv. Transplantation, weil von deren Ergebnis eine Klärung des vorliegenden Problems abhängen mußte. Nur vier beziehen sich auf die orthotopische, homopleurale dv. Operation; zwei weitere Transplantationen wurden in dem etwas weiter vorgerückten Stadium I ausgeführt und zwei weitere an der Gastrula.

Auf Skizze 1 ist ersichtlich, an welcher Stelle das Zellmaterial entnommen wurde, zugleich gibt die Zeichnung zu erkennen, daß ich ein mehr quadratisches Stück herausgeschnitten habe, kein kreisförmiges, weil an einem solchen quadratischen die Orientierung bei der Implantation wesentlich leichter ist; man kann die einzelnen Ränder besser unterscheiden. Zudem gelingt an dem sehr zarten Keim bei Gebrauch von Star-Lanzettmesserchen die Incision in Form gerader Linien wesentlich leichter.

1. Heterotopische heteropleurale dv. Transplantation von Extremitätenbildungsmaterial des Stadiums C auf Stadium C.

Bei dieser Operationsart wird also hinter die normale Bildungsstelle der Extremität der anderen Seite unter Tausch von dorsal und ventral implantiert.

Da in diesem frühen Entwicklungsstadium am Amphibium keine eigentliche „Knospe" an Stelle der später sich entwickelnden Extremität sichtbar ist, so möge der entnommene Zellkomplex kurz als „Extremitätenbildungsmaterial" bezeichnet werden. Histologisch besteht er aus Ectoderm und Mesoderm. In der Vorstellung, daß dies Material von einem gleichaltrigen Keim am leichtesten würde induciert werden können, habe ich von den erwähnten 87 Operationen 21 Verpflanzungen auf gleichaltrige Keime ausgeführt. Es sind dies die Protokollnummern 30—40, 42, 43, 45—49, 60, 65 und 66. Die Implantation des Extremitätenbildungsmaterials erfolgte dicht hinter die Stelle des Bildungsmaterials des Wirtskeimes. Von diesen 21 operierten Keimen gingen sämtliche zugrunde; 17 erreichten aber doch das Schwanzknospenstadium und nur 4, Nr. 32, 42, 65 und 66, gingen an den Folgen der Operation wenige Tage danach ein. Bei Fall 42 war zudem die gesamte linke Seite des Keimes verpflanzt worden, so daß hier der allzu große Eingriff für das Zugrundegehen der Larve verantwortlich gemacht werden muß. Die Larve 32 war infolge Anklebens an der Unterlage auf einem größeren Epidermisbezirk stark geschädigt worden. Von den 17 Larven, die das Schwanzknospenstadium erreichten, zeigten die meisten mehr oder weniger deutlich das implantierte, manchmal etwas kräftiger pigmentierte Material dicht hinter der normalen Extremitätenknospe in Form eines kleinen Höckerchens, der dem normalen durchaus glich, so daß an der Entwicklung einer normalen und einer implantierten Extremität nicht mehr zu zweifeln war. Ob aber dieser implantierte „Höcker" diese Form eingenommen hatte, weil er sich in demselben Entwicklungsstadium befand wie der normale, mag deswegen dahingestellt bleiben, weil infolge Zusammenziehens der Epidermisränder der Wunde des Wirtstieres das Implantat nach der Operation von den Seiten immer etwas

komprimiert wird. Der „Höcker" könnte somit auch rein mechanisch bedingt gewesen sein.

Viele der Larven erreichten sogar noch aktive Bewegungsfähigkeit, die sich in Form von seitlichen Krümmungen des Körpers äußerten, aber merkwürdigerweise kamen sie in ihrer Entwicklung nicht über ein fortgeschrittenes Schwanzknospenstadium heraus. Es lebten von diesen 17 Larven 5 Larven 8 Tage, 3 Larven 7 Tage, 2 Larven 6 Tage, 2 Larven 4 Tage, 1 Larve 5, eine 9, eine 11 und eine 12 Tage; bei einer fehlte der Vermerk im Protokollbuch; d. h. der größte Teil der Larven ging am 8. oder 7. Tage nach der vorgenommenen Operation aus völlig unbekannten Gründen ein, bis zu dieser Zeit machten sie aber einen durchaus gesunden Eindruck.

2. Heterotopische heteropleurale dv. Transplantation von Extremitätenbildungsmaterial des Stadiums C auf Schwanzknospenstadium.

Die Mißerfolge der eben besprochenen Transplantationsarten führten mich daher notgedrungen zur Verwendung älterer Wirtskeime, und so versuchte ich, das Bildungsmaterial von Stadium C auf Schwanzknospenstadium zu implantieren. Dem Ergebnis dieser Operationsform stand ich anfänglich insofern skeptisch gegenüber, als eine Inversion der dorsoventralen Polarität des Bildungsmaterials überhaupt nur dann stattfinden könnte, wenn dies Schwanzknospenstadium jüngerem Material gegenüber sich anders verhalten würde, wie gleichalterigem, d. h. daß es zwar Fähigkeiten besitzt, eine Inversion herbeizuführen, daß diese sich aber an einer Knospe des Schwanzknospenstadiums deswegen nicht auswirken können, weil diese bereits fest in ihrer Lateralität determiniert ist. Ganz anders wäre natürlich dies reziproke Verhältnis bei jungen, noch nicht determiniertem Material. Die Möglichkeit, daß dies jüngere, noch nicht determinierte Zellenmaterial von älterem beeinflußt werden könnte, bestand insofern, als *v. Ubisch* bei regenerativen Prozessen an Cölenteraten, Würmern und Insekten eine Aktivierung der Potenzen jugendlicher Zellen durch ältere nachweisen konnte. Diese Regenerationsversuche lassen sich natürlich den meinigen nicht unbedingt an die Seite stellen, aber immerhin weisen sie doch auf das Vorhandensein gewisser Potenzen hin, die bei normaler Entwicklung gar nicht in Erscheinung treten.

Insgesamt wurden 56 Transplantationen der erwähnten Art ausgeführt, die sich auf die Protokollnummern 1—29, 50—59, 61—64, 67—86 und Nr. 43 (vom Jahre 1922) beziehen. Von diesen 56 operierten Larven gingen 24 im Laufe der nächsten Tage zugrunde, bei 19 wurde das Implantat entweder völlig resorbiert oder entwickelte sich nur zu einem winzigen, teils mehr rundlichen, teils länglichen Stummel, der ganz rudimentär blieb. Bei diesen rudimentär bleiben-

den Stummeln war aber die primäre Auswachsrichtung dieselbe wie bei den positiven Fällen. Von diesen letzteren, 13 an der Zahl, lieferten 5 einheitliche Gliedmaßen und 8 Verdoppelungen. *Diese 5 einheitlichen Gliedmaßen waren nun sämtlich invertiert.* Es sind dies die Protokollnummern 21, 58, 64, 69 und 75.

Merkwürdig ist, daß die Auswachsrichtung all dieser Fälle mehr nach lateral und dorsal gekehrt war (Phot. Nr. 10); eine Wachstumsrichtung nach hinten unten, wie sie im Schwanzknospenstadium bei derselben Operationsart die Regel ist, fand niemals statt. Diese Erscheinung in den ersten Stadien der Entwicklung ließ schon die Vermutung aufkommen, daß auch das Endergebnis der voll entwickelten Extremität ein anderes als im Schwanzknospenstadium sein werde. Die Vermutung bestätigte sich auch. Die Erklärung aber für diese primäre Wachstumsrichtung nach lateral und zugleich aufwärts nach dorsal gekrümmt, ist nicht leicht zu geben, sie beweist eben nur, daß eine festgelegte Determination einer bestimmten, und zwar der dv. Polarität innerhalb des Extremitätenbildungsmaterials nicht vorhanden sein kann.

Bei Nr. 21 entwickelte sich 16 Tage nach der Operation ein kleiner Stummel in der erwähnten Auswachsrichtung, der 2 Tage später die erste Fingeranlage zeigte, zwei große und einen kleineren in Entwicklung begriffenen am *hinteren* Rand. Diese Entwicklung des letzten, dritten, Fingers am hinteren Rand geschah genau in derselben Form, wie an jeder normalen Extremität, so daß die Hand dieser Gliedmaße wirtsseitenrichtig geworden war und das andersseitige Bildungsmaterial invertiert worden ist. Merkwürdigerweise blieb die Bildung eines längeren Humerus und Absetzung des Gliedes in einem Ellenbogen aus, daher dieser Fall nur beweisend sein soll für eine Inversion der betreffenden Hand. Das Pigment lag dorsal.

Ganz klar und einwandfrei ist das Ergebnis des Falles 58. Es handelt sich hier um Transplantation von rechtsseitigem Bildungsmaterial auf die linke Seite eines Schwanzknospenstadiums. 5 Tage nach der Operation zeigte sich an der Implantationsstelle ein rundlicher Höcker mit zarter netzförmiger Pigmenttüpfelung, während auf der normalen linken Extremität die Pigmentzone sich von der Kehlgegend des Tieres über die dorsale Fläche des Gliedes zu einer Spitze hin erstreckte. 6 Tage nach der Operation ist bei dorsaler Betrachtung der Larve der Beginn der Wachstumsrichtung der beiden normalen Extremitäten nach hinten deutlich wahrnehmbar, während das Implantat viel rundlicher erscheint und keine bestimmte Wachstumsrichtung aufzuweisen hat. 4 Tage später ist die bereits erwähnte typische Wachstumsrichtung nach lateral und zugleich dorsal deutlich erkennbar; die stumpfe Spitze des lateral abstehenden Stummels

krümmt sich dorsalwärts um; zugleich zeigt die Dorsalseite des Stummels kräftige Pigmentfleckchen, wie auch die beiden normalen Glieder. 3 Tage später war die normale linke Extremität völlig ausgebildet mit ihren drei Fingern und dem nach hinten gekehrten Ellenbogen, sie hatte eine Länge von 1,275, während die Gesamtlänge der invertierten erst 0,975 betrug, zugleich war an letzterer noch kein Ellenbogen zu erkennen und die Herausdifferenzierung des 3. Fingers fehlte noch, während die beiden ersten Finger deutlich entwickelt waren. Erst nach weiteren 4 Tagen war die Stellung und Seitenqualität des Gliedes zu erkennen. Die Hand stand vertikal, der kleinste Finger nach dorsal, die anderen nach ventral, dementsprechend auch der jetzt deutlich entwickelte Ellenbogen nach dorsal und etwas nach hinten.

Phot. Nr. 11. Fall Nr. 58 (1923). 3 Wochen nach der Operation. Transplantation von Extremitätenbildungsmaterial des Stad. C auf Schwanzknospenstadium. Dasselbe Ergebnis wie bei Fall Nr. 64. Eine völlig normale linke Extremität ist heterotopisch aus rechtsseitigem Bildungsmaterial entstanden. Die normale linke Extremität ist amputiert.

Phot. Nr. 12. Fall Nr. 58 (1923). Dieselbe Larve wie auf Phot. Nr. 11, in Seitenlage aufgenommen. Der Ellenbogenwinkel der invertierten Extremität ist nach vorn unten offen, die dorsale Pigmentation des Gliedes ist deutlich. Vor dem Gliede ist zwischen den beiden vorderen Kiemenbüscheln der Amputationsstumpf der normalen linken Gliedmaße sichtbar.

Dieser Lage entsprach auch die Anordnung des Pigments auf der nach vorn gekehrten Fläche der Gliedmaße. *Es konnte jetzt keinem Zweifel mehr unterliegen, daß sich hier eine völlig normale linke Gliedmaße aus rechtsseitigem Bildungsmaterial entwickelt hatte, und daß somit das Harrisonsche Ergebnis des Amblystoma-Schwanzknospenstadiums an der Triton-Neurula, Stadium C (Ekman), bestätigt worden war. Die Triton-Neurula ist also dem Amblystoma-Schwanzknospenstadium biologisch äquivalent.*

Die Photographie Nr. 11, und vor allem Nr. 12, läßt die Seitenqualität des Gliedes klar erkennen. Hinzufügen muß ich, daß ich 18 Tage nach der Operation die normale linke Gliedmaße im oberen Drittel des Humerus amputiert habe, weil deren Ellenbogen beim Kriechen des Tieres das Implantat hochhob und somit eine Hemmung der Weiterentwicklung dieses wertvollen Gliedes möglich sein konnte. Man sieht daher auf der Photographie Nr. 12 vorn zwischen

den beiden ersten Kiemenbüscheln den Stummel der resezierten normalen linken Gliedmaße und dahinter die in Frage kommende invertierte in voller Ausbildung.

Durch dies Experiment ist nun bei zwei verschiedenen Amphibienarten die Möglichkeit der Umwandlung der Seitenqualität einer Extremität tatsächlich erwiesen, und ich kann mich daher nicht mit der Vorstellung einverstanden erklären, die *Przibram* ganz kürzlich in einer kleinen Mitteilung veröffentlicht hat. *Przibram* behauptet hier, daß die *Harrison*schen Versuche überhaupt nicht als Beweise für eine Umstimmung einer Knospe durch den Gesamtkörper gelten können. Auch führt er weiter als Ursache für das Auswachsen in verkehrter Richtung die Unterdrückung des Auswachsens durch die unmittelbar umliegende Körperpartie an, in welche die invers transplantierte Knospe statt auszutreiben, eindringen müßte, um ihre ursprüngliche Wachstumsrichtung beizubehalten. Ich halte die Möglichkeit einer derartigen Hemmung für ganz ausgeschlossen, so stark prominent ist die umliegende Körperpartie gar nicht. Ganz abgesehen davon würde eine Änderung der Wachstumsrichtung immer noch nicht die Seitenqualität der Extremität umändern.

Fall Nr. 64 schließt sich dem eben besprochenen an. Auch hier die typische Auswachsrichtung nach lateral und zugleich dorsal 9 Tage nach der Operation (Phot. Nr. 10). Um diese Zeit ist an der nach hinten wachsenden normalen linken Gliedmaße die erste Andeutung der beiden Finger vorhanden. 19 Tage nach der Operation ist der Ellenbogen am implantierten Glied nur schwach, aber immerhin deutlich genug ausgeprägt und nach hinten dorsal gekehrt; die Pigmentation liegt auf der nach vorn und dorsal gekehrten Fläche, eine Anordnung und Stellung, die nur eine linke Extremität annehmen kann; denn bei einer derartigen Stellung einer rechten auf der linken Seite müßte bei Haltung des Ellenbogens nach hinten-dorsal die Pigmentation auf der anzunehmenden Streckseite nach hinten-ventral gekehrt sein. Es war also auch in diesem Falle eine Inversion der Lateralität der Gliedmaße eingetreten. Auch in diesem Falle entwickelten sich vier Finger, der vierte und zugleich der kleinste stand am *hinteren* Rand und ist auf der Phot. Nr. 13 als winziges weißes Pünktchen zu erkennen. An diesem Tage betrug die Gesamtlänge des implantierten Gliedes 1,500 mm, war also noch bedeutend kürzer als die normale linke Extremität, deren Unterarm 3 Tage vorher allein schon 1,350 mm lang war. Da wie im vorhergehenden Fall beim Kriechen des Tieres die normale Linke von unten her gegen das Implantat schlug, wurde auch hier 19 Tage nach der Operation die normale Linke amputiert; der Amputationsstumpf ist auf Phot. Nr. 13 deutlich sichtbar hinter den etwas verschwommen aussehenden Kiemenbüscheln. In den näch-

sten Tagen waren bei Kriechbewegungen des Tieres deutliche kurze Zuckungen im Implantat sichtbar, ohne daß diese sich zu einer größeren in Betracht kommenden Motilität steigerten. 4 Wochen nach der Operation war der Humerus des Implantats 0,600 mm lang, der Unterarm 1,200, während der Humerus der normalen Rechten 0,900 und ihr Unterarm 1,500 mm lang war. In ähnlicher Weise ging die Entwicklung auch in Nr. 69 vor sich.

Die Auswachsrichtung des Stummels war wiederum nach lateral und zugleich dorsal gekrümmt, und nach 17 Tagen hatte sich eine gerade gestreckte Extremität mit vier Fingern entwickelt, die allerdings keinen deutlichen Ellenbogenknick erkennen ließ. Auch in der Gesamtlänge war das Glied verkürzt, sie betrug 1,050 mm, während die gleichseitige normale Linke 1,875 mm lang war. Die Deutung der Seitenqualität kann daher nur rückschließend auf Grund des Entwick-

Phot. Nr 10. Fall Nr. 64 (1923). 11 Tage nach der Operation. Heterotopische heteropleurale dv.-Transplantation von Extremitätenbildungsmaterial des Stadiums C auf Schwanzknospenstadium. Typische Wachstumsrichtung des Implantats nach lateral und zugleich dorsal.

Phot. Nr. 13. Fall Nr 64 (1923). 8 Tage später wie Phot. Nr. 10. Eine normale linke Extremität ist aus rechtsseitigem Bildungsmaterial entstanden Der Ellenbogen ist nach dorsal gekehrt, daher die Krümmung der Gliedmaße wenig auffällt. Die normale linke Gliedmaße ist amputiert, man sieht den Stumpf auf der Höhe des Ansatzes der normalen rechten Extremität.

lungsganges der Gliedmaße gegeben werden, der sich völlig an Nr. 64 anschließt.

Auch bei Nr. 75 blieb das Implantat in der Entwicklung etwas zurück und erreichte selbst 4 Wochen nach der Operation nur etwa die halbe Länge der normalen gleichseitigen Linken. Trotzdem ließ die Entstehung der Finger an der Hand keinen Zweifel an der Lateralität der Gliedmaße zu. Besonders deutlich trat auch das Hervorsprossen des dritten, kleinsten, Fingers am hinteren Rande der Hand in Erscheinung, ein Entstehungsort, der nur an einer linken Hand möglich ist. Infolge der geringen Gesamtlänge der Extremität kam hier nur ein ganz schwach angedeuteter Ellenbogen zustande, der nach dorsal gerichtet war. Die Genese dieses Falles, die sich wiederum an die vorhergehenden Fälle anschließt, und vor allem die Haltung und Entwicklung der Finger, die Anordnung des Pigmentes sprechen dafür, daß hier tatsächlich ein invertiertes Glied vorliegt.

Wäre die Hand z. B. eine rechte geblieben, so müßte der kleinste, dritte, Finger am vorderen Rand zur Entwicklung gelangen und die Wachstumstendenz der übrigen Finger nach hinten gerichtet sein, nicht nach lateral und vorn.

Anhang.

Heterotopische heteropleurale Transplantation von Extremitätenbildungsmaterial des Stadiums I (Skizze 2) auf Schwanzknospenstadium.

Wenn also im Stadium C die Lateralität des Extremitätenbildungsmaterials noch nicht determiniert ist, diese Determination aber im Schwanzknospenstadium sicher eingetreten ist, so fragt sich, ob im Stadium I vielleicht ein „Umschlagen" der Inversion eintritt, das sich in negativem oder positivem Sinne äußert, vergleichbar gewissermaßen einer chemischen Reaktion, die bei Titration von traubenzuckerhaltigem Urin mit *Fehling*scher Lösung bei einem ganz bestimmten Quantitätsverhältnis eintritt und sich in einem „Umschlagen" der Farbe äußert.

Die Versuche an diesem Stadium I (Skizze 2) sind begonnen, aber in noch zu geringer Zahl angestellt, um aus den Ergebnissen Schlußfolgerungen ziehen zu können. Die drei diesbezüglichen Fälle seien kurz erwähnt.

Bei Fall Nr. 3 wurde linkes Bildungsmaterial auf die rechte Seite implantiert. Es entwickelte sich eine Extremität auf der rechten Seite mit nach hinten offenem Ellenbogenwinkel, so daß deren Lateralität als herkunftsgemäß bezeichnet werden könnte, falls die normale Entwicklung der Finger in diesem Fall diese Vermutung bestätigt hätte. Die Fingeranlage aber blieb rudimentär.

Von den beiden anderen hierher gehörigen Fällen ging die eine Larve frühzeitig ein, die andere lieferte ebenfalls eine herkunftsgemäße Extremität, eine rechte auf der linken Seite, deren Qualität sich in der Anordnung und Entwicklung der Finger zu erkennen gab, der Ellenbogen war nur ganz schwach angedeutet. Doch scheidet dieser Fall zur Klärung des vorliegenden Problems deswegen aus, weil hier vorn und hinten und nicht dorsal und ventral vertauscht worden war.

Hier müßten also weitere umfangreiche Versuche ansetzen.

Weitere Versuche sind auch notwendig zur Klärung der Frage, ob die Vorn-Hintenpolarität des Bildungsmaterials im Stadium C ebensowenig determiniert ist, wie die dorsoventrale Polarität. Nach den Ergebnissen bei *Amblystoma* tritt sie ja früher ein als die dorsoventrale, aber die Versuche von *Milojević* mit Transplantation von Beinregeneraten bei *Triton cristatus* ergaben, daß schon in den ersten

Entwicklungsstadien des Regenerats alle drei Achsen gleichzeitig bestimmt werden, es fragt sich, ob sich das normale Bildungsmaterial ähnlich wie ein Regenerat verhält.

Zusammenfassung.

1. Die Vorn-Hintenpolarität und dorsoventrale Polarität einer Extremitätenknospe des Schwanzknospenstadiums bei *Triton taeniatus* ist fest determiniert. Es gelingt niemals eine Inversion der Seitenqualität der Extremität wie bei *Amblystoma*.

2. Der Zeitfaktor spielt eine wesentliche Rolle im Determinationsvorgang; denn im Stadium C einer *Triton*-Neurula läßt sich das *Harrison*sche Ergebnis einer Umwandlung einer linken Extremität in eine rechte und umgekehrt tatsächlich bestätigen. Das jüngere Neurulastadium von *Triton* ist daher dem älteren Schwanzknospenstadium von *Amblystoma* biologisch äquivalent.

3. Das verschiedene biologische Verhalten von *Amblystoma (Harrison)*, *Rana temporaria (Gräper)* und *Triton* kann bildlich durch die „Individuelle Entwicklungskurve der Determination" dargestellt werden, deren Individualität im wesentlichen in der verschiedenen Geschwindigkeit des Ablaufes der Determination liegt. Eine Reaktion auf exogene Faktoren wird um so leichter eintreten, je näher der Zeitpunkt der Reaktion dem Kurvenanfang liegt, weil hier die Determination noch nicht beendet ist und die endogenen Potenzen werden sich um so leichter auswirken können, je näher der Zeitpunkt der Reaktion dem Kurvenende liegt, weil hier die Determination zum Abschluß gelangt. Die Kurvenlänge ist aber selbst bei nahestehenden Amphibienarten verschieden.

4. Bei einer Analyse eines Formbildungsvorganges muß neben dem Zeitfaktor auch der Raumfaktor berücksichtigt werden. Das Extremitätenbildungsmaterial im Stadium C, dessen Lateralität noch nicht determiniert ist, liegt hinter der dorsoventralen Mittellinie des Keimes und umfaßt einen räumlichen Komplex von $6^1/_4$ Bruchteilen der gesamten Längsausdehnung des Keimes. Dieses Stadium C geht bei einer Wassertemperatur von $17-20^\circ$ C in 3—7 Stunden in das Stadium I über. Die Extremitätenknospe im Schwanzknospenstadium von *Triton*, deren Lateralität fest determiniert ist, umfaßt einen räumlichen Komplex von 3 Somiten und beträgt in der Längsausdehnung 0,45 mm bei einer Gesamtlänge der Larve von 2,47 mm, nimmt also 5,4 Bruchteile der Gesamtlänge ein.

5. Der langsamere Ablauf von Entwicklungsvorgängen bei *Amblystoma*, der biologisch in der verspäteten Determination der dorsoventralen Polarität der Gliedmaßenknospe in Erscheinung tritt, ist auch

äußerlich an der verlangsamten normalen Entwicklung der Extremität erkennbar. Auch diese läuft bei *Triton* schneller ab.

6. *Triton* regeneriert nicht immer. Unter den Entnahmetieren des Jahres 1922 blieb bei 11 Larven eine Regeneration der Vordergliedmaße völlig aus. Ein Beispiel dieser Art ist Nr. 63, hier ist keine Regeneration der rechten Gliedmaße eingetreten.

Literaturverzeichnis.

Alberti: Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **50.** 1922. — *Brandt:* Verhandl. d. Anat. Ges. 1923. — *Braus:* Verhandl. d. anat. Ges. Jena 1904. — Ders.: Naturwissenschaften 1922. H. 19 u. 20. — *Detwiler:* Journ. of exp. zool. **25,** 2. 1918. — Ders.: Proc. of the nat. acad. of sciences (U. S. A.) **5.** 1919. — Ders.: Journ. of exp. zool. **31,** 1. 1920. — Ders.: Ebenda **35.** 1922. — *Driesch:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **30,** 1. 1910. — *Ekman:* Ebenda 1914. — Ders: Societas scientiarum Fennica Commentationes Biologicae **3.** 1922. — *Gräper:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **51,** 1/2. 1922. — Ders.: Ebenda **51,** 3/4. 1922. — Ders.: Verhandl. d. anat. Ges. 1922. — Ders.: Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **98,** 1/2. 1923. — *Gurwitsch:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **30.** 1. 1910. — Ders.: Ebenda **51.** 3/4. 1922. — Ders.: Abh. zur theoret. Biologie 1923. H. **17.** — *Harrison:* Journ. of exp. zool. **32.** 1. 1921. — *Heider:* Verhandl. d. dtsch. zool. Ges. 1900. — *Kurz:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **50.** 1922. — *Milojević:* Verhandl. d. dtsch. zool. Ges. 1923. — *Prell:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **51.** 1/2. 1922. — *Przibram:* Akad. Anzeiger Nr. 17. Akad. d. Wiss. in Wien 1923. — *Roux:* Vorträge u. Aufsätze üb. Entwicklungsmech. d. Organismen 1905. — *Ruud* u. *Spemann:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **52,** 1/2. 1922. — *Schaxel:* Genetica Tl. IV, Lief. 3 u. 4. — Ders.: Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **50.** 1922. — *Schotté:* Cpt. rend. des séances de la soc. d. physique et d'histoire naturelle de Genève **39,** 2. 1922. — *Spemann:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **30.** 2. 1910. — Ders.: Zool. Jahrb., Abt. f. Zool. u. Physiol. **32.** 1912. — Ders.: Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **43.** 1918. — Ders.: Ebenda **45.** 1919. — Ders.: Ebenda **48.** 1921. — *Swett:* Journ. of. exp. zool. **37.** 2. 1923. — *Taube:* Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **49.** 1921. — *v. Ubisch:* Ebenda **51,** 1/2. 1922. — Ders.: Ebenda **52.** 3/4. 1923. — *Vogt:* Verhandl. d. dtsch. zool. Ges. 1922. — *Wilhelmi:* Ebenda 1921. — Dies.: Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **52,** 1/2. 1922.

Experimentelle Studien an embryonalen Amphibienherzen[1]).

II. Über Transplantation embryonaler Amphibienherzen.

Von

Ph. Stöhr jr.

(Aus den Anatomischen Instituten Freiburg und Würzburg.)

Mit 26 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. April 1924.)

Einleitung.

Nach meinen früher geschilderten Resultaten hielt ich einerseits den Einfluß des Blutstromes, andererseits die Wirksamkeit in der Umgebung des Herzens gelegener Faktoren mit großer Wahrscheinlichkeit an der Formbildung des embryonalen Herzens beteiligt. Um dies aber nachzuweisen, habe ich versucht, sowohl die Richtung des Blutstromes, wie die Umgebung des Herzens durch die Transplantation zu ändern. Schwierigkeiten in der Technik brachten es anfänglich mit sich, daß ich die Herzanlage nicht in einer ganz bestimmten Orientierung zu den Körperebenen einpflanzen konnte, wie ich ursprünglich beabsichtigt hatte. Zunächst sah ich einen gewissen Erfolg schon darin, wenn ich die Herzanlage überhaupt zur Einheilung gebracht hatte.

Ich weiß sehr wohl, daß meine bisherigen Studien eine große Reihe von Fragen erst aufwerfen und auf Weniges nur eine exakte Antwort geben. Trotzdem glaube ich mit einer Veröffentlichung nicht zurückhalten zu sollen, da eine Reihe von Beobachtungen, auch solche über Leber- und Darmtransplantation, vielleicht manches Wissenswerte bringen. Vorhandene Lücken gedenke ich nach Möglichkeit späterhin auszufüllen.

Material und Methode.

Die Operationen habe ich in Freiburg ausgeführt und in der Hauptsache hierzu den dort sehr häufigen *Bombinator pachypus* verwendet. Nur wenige Transplantationen wurden an *Rana esculenta* gemacht. Die Embryonen waren im Stadium der beginnenden Schwanzknospe. Es gelingt nach einiger Übung leicht, die Herzanlage einem Embryo zu entnehmen und sie einem anderen an beliebiger Stelle zu implantieren. Nur ist hierbei von ganz besonderer Bedeutung, daß man eine genügend große Menge Entomesodermzellen mit entnimmt und eine hinreichende Ektodermhülle wählt. Dieser Umstand, sowie ein genaues Passen der Wundränder aufeinander sind von ausschlaggebendem Einfluß für

[1]) Die Untersuchungen wurden mit Hilfe der Rockefeller-Foundation ausgeführt.

das Gelingen der Operation. Nach 20 Minuten, spätestens in einer halben Stunde, ist das Implantat angeheilt.

Operiert habe ich unter der binokularen Lupe in *Locke*scher Lösung, der ich direkt nach der Operation noch etwas kalkhaltiges Würzburger Wasser zusetzte. Das Implantat muß mit Glasbrücken auf dem Wirtstier vorsichtig fixiert werden. Beherrscht man einmal die Technik, so ist die Zahl der operativen Mißerfolge eine erstaunlich geringe. Die Tiere wurden in Zenker fixiert und die geschnittenen Serien dann mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Allgemeines zur Entwicklung implantierter Herzanlagen.

Die ersten Tage nach der Operation pflegt das Implantat sich meist wie ein Bruchsack von seiner Umgebung hervorzuwölben. Beiliegende Abb. 1 mag dieses Verhalten erläutern. Bei fortschreitendem Wachstum des Tieres, etwa vom 4. bis 6. Tage nach der Operation, nimmt auch die Größe des Implantates, offenbar durch Zellvermehrung und Wasseraufnahme, entsprechend zu. Dasselbe ist immer noch ziemlich beträchtlich von seiner Umgebung gleichsam abgeschnürt und dem Wirtstier häufig wie ein Appendix angesetzt. In diesem Stadium (Abb. 2), meist schon etwas früher, kann man bei schärfster Beleuchtung den Kontur des Implantates sich ganz langsam hin und her schieben sehen. Die ersten Pulsationen des Herzens haben begonnen.

Abb. 1. Embryo von *Bombinator pachypus* mit seitlich implantierter Herzanlage. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg[1]).

Bei fortschreitender Entwicklung sucht offenbar der Organismus die implantierte Herzanlage in ihre Umgebung mehr und mehr einzunivellieren. In späteren Stadien kommt ein bruchsackartiges Hervorstehen des Implantates mit Ausnahme in der Gegend der Schwanzwurzel überhaupt nicht mehr vor.

Abb. 2. Embryo von *Bombinator pachypus* mit implantierter Herzanlage. 2 Tage nach der Operation. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg.

Der Grad und die Schnelligkeit der Einnivellierung hängen sicher zunächst davon ab, wieviel man vorher an Material aus der Implantationsstelle entfernt hat. Je tiefer die Wunde gesetzt wird und je geringer die Masse des Implantates ist, um so leichter und rascher wird natürlich die Herzanlage in den

[1]) Die mikroskopischen Abbildungen sind von Herrn Univ.-Zeichner *W. Freytag* gezeichnet.

Außenkontur des Wirtstieres einbezogen. Es hat übrigens den Anschein, als nähme die Potenz des Organismus, sich das Implantat völlig in seinen äußeren Kontur einzuverleiben, vom Kopfe nach dem Schwanze zu ab. Wenigstens habe ich an der Schwanzwurzel noch hernienartig hervorgestülpte Herzen im Stadium der beginnenden Metamorphose beobachtet, niemals aber solche an Kopf und Rumpf. Abb. 3 läßt in Höhe der Schwanzwurzel durch das aufgehellte Ektoderm hindurch ein Herz, das kräftig pulsierte, erkennen. Doch ist die Hervorwölbung schon bedeutend geringer wie in den beiden oben abgebildeten Stadien.

Abb. 3. Larve von *Bombinator pachypus* mit implantiertem Herzen. 6 Tage nach der Operation. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg.

Abb. 4 zeigt ein Tier mit zwei Herzen 4 Wochen nach der Operation. Das lebhaft pulsierende implantierte Herz hing der Larve an

Abb. 4. Larve von *Bombinator pachypus* mit an der Schwanzwurzel befindlichem, implantierten Herzen. 4 Wochen nach der Operation. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg.

Abb. 5. Asymmetrische Larve von *Bombinator pachypus*, 23 Tage nach der Operation. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg.

der Schwanzwurzel bruchsackartig in einer Ektodermhülle an, ist jedoch durch Gefäße und Bindegewebszüge mit dem anliegenden Darm des Wirtstieres aufs innigste verbunden. In einem Falle wurde übrigens

durch ein an diese Stelle implantiertes Herz Verschluß des Afters hervorgerufen.

Hat man weiter cranialwärts implantiert — ich habe zunächst aus technischen Gründen immer nur die laterale Seite, nicht aber vordere Bauch- oder Rückseite gewählt —, so kommt in den weitaus meisten Fällen folgende bemerkenswerte Erscheinung in der Entwicklung des gesamten Tierkörpers zur Beobachtung. Es läßt sich nämlich eine mehr oder weniger bedeutende Asymmetrie am Körper der Larve feststellen und zwar wird diejenige Seite, wo die Herzanlage implantiert war, schwächer entwickelt. Nur in einem einzigen Falle bei 120 operierten Tieren sah ich sie hypertrophisch werden. Abb. 5 auf vorhergehender Seite mag dieses Verhalten deutlich vor Augen führen. Auf der atrophischen, rechten Seite des Tieres wird der Kontur durch das Ektoderm über dem implantierten Herzen nach außen vorgebuchtet. Das Herz selbst ist nicht sichtbar, da die Aufnahme gerade im Augenblick der Systole erfolgt ist, wo es sich nach der Medianebene hin kontrahiert hatte. Bei der Diastole stieß es jedesmal deutlich sichtbar an das Ektoderm an.

Im Entwicklungsverlauf macht sich die Asymmetrie der Larve unter Umständen schon am 6. Tage nach der Operation bemerkbar und kann dann 3 bis 4 Wochen lang, manchmal noch länger, sehr deutlich in Erscheinung treten. Bleiben die Tiere aber noch einige Wochen weiterhin am Leben, etwa bis zum Beginn der Metamorphose, so wird der Unterschied in der Größe beider Körperhälften mehr und mehr ausgeglichen. Das zeigt sich auch an den Bewegungen der Tiere, die in einem solch älteren Stadium meist nicht mehr schief, mit der schwereren Seite etwas nach unten geneigt, sondern gut im Gleichgewicht ausbalanciert einherschwimmen. Der Organismus verfügt demnach über ganz erhebliche Kräfte, eine verloren gegangene Symmetrie wieder auszugleichen.

Wahrscheinlich wird die Asymmetrie der Larven durch zwei Ursachen bedingt. Zunächst habe ich, um die Herzanlage gut implantieren zu können, einen Haufen Dotterzellen aus der Bauchseite entfernt, dem Embryo also eine Menge Ernährungs- und Dottermaterial weggenommen. Das würde jedoch, wenn die entfernte Entomesodermmasse nicht allzu beträchtlich ist, noch nicht zu einer Atrophie der betreffenden Seite führen. Denn überläßt man ohne weiteren Eingriff den Embryo seinem Schicksal, so vermag er gar wohl den erlittenen Verlust auszugleichen und es entwickelt sich eine normale, fast symmetrische Larve. Es muß demnach die Hauptursache der Atrophie in dem Implantat gelegen sein.

Implantierte Anlagen von Extremitäten oder Dottermaterial rufen kaum irgendwelche bleibenden Asymmetrien hervor. Der Organismus

reguliert diese Implantate eben auf vollendetste Weise in sich hinein. Es muß infolgedessen in der Herzanlage selbst etwas sein, das das Zurückbleiben derjenigen Seite, wo implantiert wurde, im Wachstum zur Folge hat. In meiner vorhergehenden Arbeit habe ich gezeigt, daß — allerdings nur im Explantat — das wachsende embryonale Herz auf Kosten seiner Umgebung sich vergrößert und diese Umgebung, Dotterzellen und Leber, rücksichtslos bis zuletzt ausnützt. Die einzelnen Gewebe sind eben, wenn sie zu einem Kampfe ums Dasein gegeneinander gerufen werden sollten, sicherlich nicht gleichwertig.

Sobald einmal das embryonale Herzgewebe begonnen hat, rhythmische Kontraktionen auszuführen, ist es ohne Zweifel allen anderen Geweben an Kampfkraft überlegen. Es nimmt nicht nur das, was es braucht, aus seinen Nachbargeweben, es verdrängt auch diese bei weiterem Wachstum immer mehr. Da es für seine Bewegungen einen freien Spielraum benötigt, läßt es seine direkte Umgebung häufig gar nicht zur Weiterentwicklung kommen. Im implantierten Herzen mit seiner im Hinblick auf den kleinen Gesamtorganismus doch ganz gewaltigen Größe und Bewegung ist demnach die Hauptursache der Asymmetrie zu erblicken.

Man kann die implantierte Herzanlage geradezu als einen Feind der Regeneration bezeichnen und sie daher an Stellen einpflanzen, wo man eine solche aus irgendwelchen Gründen verhindern will. Implantiert man das Herz in einen Defekt des Zentralnervensystems, so kommt eine Vereinigung der Nerven niemals zustande, implantiert man es direkt neben eine Extremitätenanlage, so kann diese an der Entwicklung verhindert werden.

Trotz alledem werden bei 6 bis 8 Wochen alten Larven anfängliche Asymmetrien mehr und mehr ausgeglichen. Zunächst läßt sich leicht beobachten, daß das Herz, obwohl es anfänglich wie ein Bruchsack nach der lateralen Seite hervorgewölbt ist, allmählich tiefer nach der Medianebene zu verlagert wird. Der Organismus hat möglicherweise das Bestreben, das implantierte Herz medianwärts zu ziehen und bewerkstelligt dies teilweise sicherlich mit Hilfe des Darmes. Das implantierte Herz ist fast stets entweder direkt mit dem Darm oder indirekt durch die implantierte Leber, mit der es immer verbunden ist, an den Darm des Wirtstieres fixiert. Implantiertes Darmmaterial bildet aber mit demjenigen des Wirtstieres stets einen gemeinsamen, einheitlichen Darm. So wird durch höchst komplizierte Verschiebung und Umbildung von Darmschlingen das Herz nach der Mitte hin verlagert. Je älter das Tier ist, um so näher der Medianebene finden wir gewöhnlich das implantierte Herz. Doch mag für diese allmählich medianwärts stattfindende Lageveränderung auch die zunehmende

Schwere des Herzens ein bedeutsamer Grund sein. Denn der leicht verschiebliche Darm vermag dem Drucke des anfänglich seitlich oben gelegenen schweren und pulsierenden Organes keinen genügenden Widerstand entgegenzusetzen.

In seltenen Fällen bleibt dennoch die implantierte Herzanlage auf der lateralen Bauchseite liegen, nämlich dann, wenn sie durch zahlreiche Gefäße und viel Bindegewebe an die Bauchwand fixiert ist.

Larven mit implantierter Herzanlage bleiben anfänglich in der Gesamtentwicklung hinter gleichaltrigen Kontrolltieren zurück, doch kann die Differenz in einigen Wochen wieder ausgeglichen werden. Die Ursache der geringeren Wachstumsgeschwindigkeit kann in Mißbildungen bei der Darmgestaltung, in Veränderungen des gesamten Blutkreislaufs oder sonst unbekannten Ursachen gelegen sein.

Über das physiologische Verhalten implantierter Herzanlagen.

Hat man eine implantierte Herzanlage glücklich zur Anheilung gebracht, so treten sofort drei Fragen von außerordentlicher Bedeutung auf, nämlich: 1. Wie verhält sich die Pulszahl des implantierten Herzens zu der des Wirtstierherzens? 2. Gewinnt das implantierte Herz Anschluß an den allgemeinen Kreislauf? und 3. Welchen Einfluß hat in letzterem Falle das implantierte Herz auf den Kreislauf? Die Frage: Wie verhält sich der Kreislauf, wenn zwei Herzen vorhanden sind? findet sich übrigens schon bei *Born*, und unter seinen Kompositionen waren auch solche anzutreffen, bei denen „mit Sicherheit zwei pulsierende Herzen konstatiert werden, die sich aber nicht im gleichen Takte zusammenziehen".

a) Über das Verhältnis der Pulszahlen des implantierten Herzens zu denen des Wirtstierherzens.

Daß eine mit aller Vorsicht implantierte Herzanlage zu pulsieren beginnt, war nach den mit der Explantation nach *Ekman* gemachten Erfahrungen ohne weiteres zu erwarten. Denn selbst wenn sich keinerlei Verbindung mit dem Kreislauf des Wirtstieres herstellen sollte, war der Herzanlage eine große Masse Entomesodermzellen mitgegeben worden, die für einige Zeit ausreichend war, dem Herzgewebe zur Weiterentwicklung genügend Stoffe zu liefern oder auch als formbestimmender Faktor mitzuwirken.

In der Tat habe ich daher, gerade wie bei meinen Explantationsversuchen, die ersten rhythmischen Kontraktionen des implantierten Herzens etwa 3 bis 5 Tage nach der Operation wahrnehmen können. Von besonderer Wichtigkeit ist hierbei, daß man den Embryo aufs allerschärfste beleuchtet und den Kontur des noch stark hervorgewölbten Implantates von allen Seiten sehr genau und sorgfältig längere

Zeit betrachtet. Das erfordert anfangs viel Anstrengung, nach einiger Übung gelangt man aber dazu, selbst ganz langsame, peristaltische Verschiebungen des Konturs sogleich zu sehen. Daß das Herz seine Bewegungen eher ausführt, als wir es wegen des noch undurchsichtigen Ektoderms wahrnehmen können, ist nach meinen früheren Erfahrungen sicher.

Bei allen meinen operierten Tieren habe ich die Pulszahlen beider Herzen täglich gleichzeitig aufgenommen und notiert. Beide Herzen fingen manchmal zu gleicher, manchmal auch zu verschiedener Zeit an — oft wenige Stunden, oft auch bis zu 3 Tagen getrennt — ihre peristaltischen Kontraktionen auszuführen; sie erhöhten allmählich in etwa 8—10 Tagen nach der Operation ihre Pulszahl auf 40—60 Schläge in der Minute. Die Pulszahl kann sowohl darüber wie darunter von beiden Herzen eine Änderung erfahren.

Ein Hauptergebnis im Verhalten der Pulszahlen zweier Herzen in einem einzigen Organismus sei hier sogleich bemerkt: Niemals ist eine gleiche Pulszahl oder gar eine gleichzeitige Systole oder Diastole von zwei Herzen auf längere Zeit zu beobachten. Es kommt allerdings vor, daß man an beiden Herzen eines Tieres die gleiche Pulszahl erhält, in seltenen Fällen sogar ein synchrones Auftreten der Systolen und Diastolen zu sehen bekommt. Das dauert aber selbst in diesem Falle nie länger wie einige Minuten. Erst kaum bemerkbar, allmählich aber immer deutlicher tritt eine Verschiebung in den Systolen auf, schließlich arbeiten beide Herzen intermittierend, um dann wieder zum kurz dauernden Synchronismus zurückzukehren.

Um diesen Vorgang beobachten zu können, muß man natürlich beide Herzen des Tieres auf ein Gesichtsfeld vereinigen, was aber nicht immer gelingt. Doch stellt der eben angeführte Fall ein Extrem dar; meist differieren die Pulszahlen um eine größere, allerdings schwankende Anzahl von Schlägen in der Minute. Es behält also unter allen Umständen jedes Herz einen gewissen Eigenrhythmus bei. Das stimmt mit den Resultaten, die *Weiss* bei seinen Herztransplantationen an erwachsenen Amphibien gewonnen hat, überein.

Beim Studium der Pulszahlen meiner Tabellen wäre aber noch folgender Punkt der Erwähnung wert. Etwas haben die Pulszahlen nämlich doch miteinander gemeinsam. Bei steigender Pulszahl des Wirtsherzens nimmt auch diejenige des implantierten Herzens in ungefähr gleichem Verhältnis zu und verringert sich wieder in demselben Maße bei Sinken der Pulszahl des Wirtsherzens. Diese Erfahrung habe ich bei sämtlichen Tieren ohne jede Ausnahme in über 100 Fällen gemacht. Erhöhung der Pulszahl kann man sehr leicht durch Erwärmung des Wassers erreichen. Dann beginnen alsbald beide Herzen in bedeutend gesteigertem Maße — bis zu 130 Schlägen in der Minute —

zu arbeiten. Die Ursache für die gemeinsame Erhöhung beider Pulszahlen braucht aber nicht allein im Wirtstier gelegen zu sein, sondern könnte sowohl im Wirtstier wie unabhängig davon im Implantat zu suchen sein.

Um zu untersuchen, ob der Organismus über Mittel verfügt, die Pulszahlen zweier Herzen zu gleicher Größe zu bringen, oder ob jedes Herz seine Eigenzahl sicher beibehält, habe ich Herzanlagen von älteren Embryonen jüngeren Stadien implantiert. Somit war zu erwarten, daß das Implantat seine Kontraktionen eher begann wie das Wirtsherz. Der Organismus hatte, vorausgesetzt daß beide Herzen das gleiche Wachstumstempo beibehielten, viel größere Differenzen auszugleichen oder aber die Differenz in der Pulszahl mußte bedeutend größer sein.

In der Tat begann die implantierte Herzanlage zuerst zu pulsieren und war in der Pulsfrequenz dem Wirtsherzen fast immer voraus. Eine größere Differenz der Pulszahlen wurde jedoch schließlich nicht erzielt, es war das gleiche Verhältnis wie bei der Implantation gleichaltriger Herzanlagen zu beobachten. Die anfänglich höhere Pulszahl eines implantierten älteren Herzens wird vom Wirtsherzen sehr rasch annähernd erreicht, manchmal sogar übertroffen.

Irgend etwas ist zweifellos vorhanden, das auf die Pulszahl beider Herzen in gleicher Weise einwirkt. Was das aber ist, ob Nervensystem, innere Sekretion, gleichzeitig vermehrter oder verminderter Stoffwechsel beider Herzen, fortgeleitete Blutwelle, wenn beide Herzen durch größere Gefäße miteinander verbunden sein sollten, läßt sich zunächst nicht angeben.

Der Puls beider Herzen war stets regelmäßig. Nur in zwei Fällen habe ich bei implantierten Herzen völlig unabhängige Kontraktionen beobachtet, offenbar Überleitungsstörungen, die der Kliniker mit dem Namen Herzblock bezeichnet. Im ersten Fall trafen auf eine Systole zweier Herzabschnitte zwei Systolen eines dritten Abschnittes. Im zweiten Fall hatte der Sinus 100 Pulsschläge, während der anschließende Abschnitt nur deren 72 aufwies, von denen immer je zwei Schläge kurz hintereinander durch eine kleine Pause von den beiden nächstfolgenden getrennt festzustellen waren. Doch waren in beiden Fällen diese plötzlich aufgetretenen Störungen schon nach 1 bis 2 Tagen behoben. Implantierte Herzen schlagen demnach mit der gleichen Regelmäßigkeit, aber nicht im gleichen Tempo wie explantierte Herzen.

Wie sich später aus der histologischen Untersuchung ergeben wird, hat die Größe des implantierten Herzens mit der Zahl seiner Pulsschläge nicht das geringste zu tun. Große wie kleine implantierte Herzen verhielten sich hinsichtlich ihrer Pulszahl zum Herzen des Wirtstieres vollkommen gleich.

b) Über den Anschluß des implantierten Herzens an den allgemeinen Kreislauf.

Der Anschluß des implantierten Herzens an den allgemeinen Kreislauf ist von großem physiologischen Interesse, aber auch, wie wir später sehen werden, wahrscheinlich von entscheidender Bedeutung für die Form des Herzens. Läßt sich eine Verbindung zwischen Implantat und Gefäßsystem des Wirtstieres herstellen, so haben wir theoretisch drei Möglichkeiten einer Beeinflussung des Blutstromes durch die jetzt vorhandenen zwei Motoren zu erwarten: 1. Das implantierte Herz ist in den Kreislauf „gleicharbeitend" hineinorientiert, d. h. es würde den Blutstrom in die gleiche Richtung wie das Eigenherz treiben. 2. Das implantierte Herz ist in den Kreislauf „gegenarbeitend" hineinorientiert; Konflikte in der Blutbewegung wären mit Sicherheit zu erwarten. Voraussetzung für diese beiden Fälle ist eine doppelte Verbindung des implantierten Herzens mit seinem arteriellen und venösen Teil mit dem allgemeinen Kreislauf. 3. Das implantierte Herz ist nur an einem Ende mit dem Gefäßsystem des Wirtstieres verbunden; es ist also wie ein Appendix in den allgemeinen Kreislauf eingeschaltet.

Letzten Endes wäre noch möglich, daß das implantierte Herz überhaupt keinen Anschluß an den allgemeinen Kreislauf findet und ein eigenes, geschlossenes Gefäßsystem für sich ausbildet.

In der Tat habe ich alle diese Möglichkeiten erhalten. Es ist mir aber leider erst am Schlusse der Laichperiode gelungen, die Herzanlage willkürlich in ganz bestimmter Orientierung zu den Ebenen des Wirtstieres zu implantieren, wie dies *Harrison* mit den Extremitätenanlagen getan hat. Ich werde später hierauf genauer eingehen. Meistens habe ich auf „gut Glück" implantiert und vermag daher über die Orientierung des Implantates zu den Ebenen des Wirtstieres keine Angaben mehr zu machen.

Hat man 2—4 Tage nach der Operation die ersten Pulsationen beider Herzen wahrgnommen, so ist für das weitere Wachstum des Embryos von größter Bedeutung, daß die Kiemen gebildet werden und der Kreislauf in ihnen, wenn auch zunächst sehr langsam, sichtbar wird. Bleibt dieser Vorgang der Kiemenbildung, der teilweise vom Blutkreislauf abhängig ist, aus, so geht der Embryo nach einiger Zeit sicher zugrunde.

Sprossen jedoch die Kiemen gut hervor, so ist für den wachsenden Organismus keine Gefahr mehr vorhanden. Das Ektoderm hellt sich auf, das bruchsackartig hervorstehende Implantat wird mehr und mehr einnivelliert, die Asymmetrie beider Körperhälften ist sehr deutlich, und wir erkennen in den Gefäßen die Richtung des Blutstromes aufs allerschönste.

Da beide Herzen stets eine verschiedene Pulszahl zeigen, so müssen die in direkter Nähe des Implantates befindlichen Gefäße einen anderen Puls aufweisen wie die übrigen Blutgefäße, wenn das implantierte Herz mit dem allgemeinen Kreislauf verbunden ist. Dies habe ich auch an den hinteren Segmentalarterien beobachten können, wo in vielen Fällen sich der Puls des weit hinten implantierten Herzens feststellen ließ. Damit ist ein Anschluß des Implantates an den Körperkreislauf bewiesen, was durch die histologische Untersuchung bestätigt wird.

Daß das Implantat mit dem allgemeinen Körperkreislauf überhaupt in keinerlei Zusammenhang tritt, habe ich gelegentlich beobachtet.

c) Über den Einfluß des implantierten Herzens auf den Körperkreislauf.

Wenn zwei Motoren im Kreislaufsystem nicht ganz exakt miteinander oder sogar gegeneinander arbeiten, so kommt es unfehlbar zu Störungen in den Betriebs- und Gestaltungsfunktionen, die der wachsende Organismus nach Möglichkeit zu regulieren haben wird. In den meisten Fällen werden Unstimmigkeiten in der Blutzirkulation glänzend behoben; das Tier entwickelt sich mit seinen beiden schlagenden Herzen wie ein normales, ein anfängliches Zurückbleiben im Wachstum abgerechnet.

Doch können größere Störungen im Kreislauf sehr wahrscheinlich ein stärkeres Zurückbleiben im Wachstumstempo verursachen. Bekanntlich entwickeln sich ja Embryonen ohne Blutzirkulation über ein bestimmtes Stadium nicht hinaus. Es wäre aber noch möglich, daß das Kleinerbleiben durch Schwierigkeiten in der Verdauung der aufgenommenen Nahrung bewirkt würde, da bei meiner Transplantationsmethode starke Umbildungen des Darmsystemes die Regel waren.

Ohne Zweifel entnimmt ein implantiertes Herz bei jeder Diastole dem Körperkreislauf eine ganz beträchtliche Menge Blut. Bei älteren Larven sehen wir immer die implantierten Herzen bei der Diastole sich rot mit Blut füllen und es bei der Systole wieder entleeren. Für Form und Funktion des Herzens ist das Vorhandensein des Blutstromes wahrscheinlich von ausschlaggebender Bedeutung. Wenn bei weiterem Wachstum der Larven die schlagenden implantierten Herzen kleiner und kleiner werden und schließlich ihre Pulsation ganz einstellen, so war die Ursache hierzu sicher die fehlende oder ungenügende Blutmenge, mit welcher das Herz sich in seine Größe und in seine Form hätte hineinarbeiten können.

Eines scheint mir sicher zu sein: Zwei Herzen in einem einzigen Organismus treten sich sogleich als Feinde gegenüber und beginnen alsbald den Kampf um das, was sie am notwendigsten zu ihrer Ent-

wicklung brauchen, um das Blut. Gelingt es beiden, eine genügende Menge Blut zu erhalten, so besteht für ihre Existenz keine Gefahr, sie entwickeln sich im gleichen Tempo weiter. In den meisten Fällen erhält nach meinen jetzigen Beobachtungen das Wirtsherz aber doch das Übergewicht über das Implantat und damit ist dessen Schicksal besiegelt. Es bleibt auf irgendeiner Wachstumsstufe stehen, immer weniger Blut fort- oder nur hin- und herbewegend und obliteriert schließlich.

Es kann aber anders kommen, wenn das implantierte Herz sich als das stärkere erweist. Man erkennt in diesem Falle, wie das Herz des Wirtstieres allmählich eine immer geringere Blutmenge auswirft; es wird daher immer heller und blässer, arbeitet mit äußerster Intensität, aber offenbar nur mit einer ganz minimalen Blutmenge. Das implantierte Herz schwillt hingegen mächtig an und vermag an Volumen das Wirtsherz zu übertreffen. Seine Kontraktionen sind von bedeutender Kraft und seine Farbe ist in der Diastole dunkelrot. Es hat offenbar fast das gesamte Körperblut in Umlauf zu setzen. Geht der Kiemenkreislauf in genügender Intensität weiter, so ist für das Tier keine Gefahr zu befürchten. Hört er aber auf, so ist sein baldiger Tod sehr wahrscheinlich. Ein fast leer schlagendes Wirtsherz kann übrigens nach einiger Zeit wieder über eine erhebliche Blutmenge verfügen.

Mitunter schwillt das implantierte Herz gewaltig an, führt die kräftigsten Pulsationen aus und ist mit Blut dicht angefüllt. Aber infolge fehlenden oder nicht genügenden Anschlusses an den Körperkreislauf ist es nicht imstande, das Blut in entsprechendem Maße wieder auszuwerfen. Es pumpt die Blutmasse in seinem Innern ziellos hin und her oder treibt sie durch feine, allerdings zum Bersten angefüllte Gefäße in seine nächste bindegewebige Umgebung, wo sich dann ein großes Blutextravasat bildet.

Nicht selten fehlt ein Kiemenkreislauf, obwohl beide Herzen ihre Pulsationen ausführen. Hier arbeiten die Herzen offenbar mit gleicher Kraft gegeneinander. Sieht man nicht innerhalb weniger Tage die ersten Blutkörperchen in den Kiemengefäßen kreisen, so geht das Tier mit Sicherheit zugrunde. Vielleicht spielt bei Mißerfolgen auch die biochemische Differenz des Implantates eine Rolle.

d) Über das Verhalten der auf den Kopf implantierten Herzanlagen.

Verpflanzt man Herzen auf die eine Seite des Kopfes, so wölbt sich das Implantat zunächst geradeso hervor wie an anderen Körperregionen. Nach einiger Zeit bemerkt man die ersten, ganz langsamen Pulsationen, das Implantat wird mehr und mehr einnivelliert. Hellt sich nun bei fortschreitendem Wachstum des Embryos das Ektoderm

auf, so kann man aufs schönste die einzelnen Abschnitte des schlagenden Herzens innerhalb der Schädelkapsel beobachten.

Abb. 6 zeigt eine *Bombinator*-Larve 6 Tage nach Implantation der Herzanlage. Gehirn- und Knorpelanlagen fehlen fast vollständig; in

Abb. 6. Larve von *Bombynator pachypus* mit einer auf den Kopf implantierten Herzanlage. 6 Tage nach der Operation. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg.

der Mitte der glashellen Ektodermkapsel sieht man eine weiße, schräg nach unten vorn geneigte Masse, die implantierte Leber. Darüber, in Verlängerung des Achsenskeletts, befindet sich das implantierte Herz. Das Herz des Wirtstieres ist gleichfalls sichtbar. Beide Herzen zeigten in diesem Stadium kräftige und regelmäßige Pulsationen. Vom Gehirn läßt sich nichts Bestimmtes unter dem binokularen Mikroskop erkennen, auch bei bedeutend älteren Stadien nicht, ein Zeichen, daß sowohl Wachstum wie Regeneration von Geweben im Pulsationsbereich des Herzens verhindert werden. Abbild. 7 ist eine Umrißzeichnung einer von oben gesehenen, älteren Larve. An Stelle des Gehirns finden sich auf der linken Seite zwei Abschnitte des implantierten Herzens, die große dunkle Masse rechts ist die Leber, der schmale Streifen darunter und davor die Gallenblase. Letztere hatte infolge der reichlich angesammelten Galle ein schönes, grünes Aussehen.

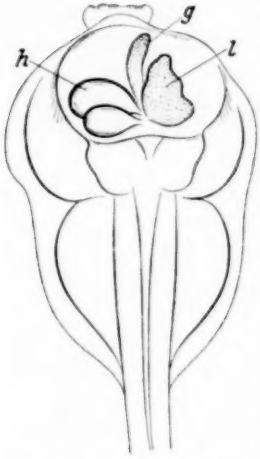


Abb. 7. Dorsalansicht einer 3 Wochen alten *Bombinator*-Larve mit auf den Kopf implantierter Herzanlage. *h* Herz, *g* Gallenblase, *l* Leber.

Es ist auch hier unverkennbar, daß die Herzanlage möglichst nahe an die Medianebene gelagert ist. Bei dem gezeichneten Tiere ist das Gleichgewicht dadurch aufs beste ausbalanciert, daß dem Herzen die wohl ebenso schwere Leber und Gallenblase gegenüber gelagert sind. Derartig operierte Tiere vermochten übrigens niemals gerade, sondern nur im Bogen zu schwimmen. Denn meistens fehlte auf der Seite der Implantation das Labyrinthbläschen, andererseits kam das Auge der näm-

lichen Seite, manchmal auch beide, nicht zur Entwicklung. Die Tiere waren sehr reizbar und schwammen aufgeregt umher, sobald man sie mit der Haarschlinge berührte. Daß sie im Wachstum erheblich zurückbleiben, liegt zweifellos in der Schwierigkeit der Nahrungsaufnahme.

Da bei der Implantation auf den Kopf sich die Organe in der glashellen Ektodermhülle dem Blick offen darbieten und nicht durch Darm oder Pigment überlagert sind, so kann man ausgezeichnet den Blutkreislauf des Implantates studieren. Man sieht das pulsierende Herz die Blutkörperchen durch die Kapillaren der Leber hindurchtreiben, man kann direkt verfolgen, wie das Implantatblut in die Kiemengefäße der gleichen Seite tritt; ein Anschluß an den allgemeinen Kreislauf ist also absolut sicher. Daß auch in der Wand der Kopfektodermblase sich eine Menge Kapillaren befinden, in denen der Pulsschlag des implantierten Herzens herrscht, sei nebenbei erwähnt.

Über die Form der implantierten Herzen.

Im Grunde habe ich hier genau die gleichen Ergebnisse wie mit der Explantation. Kein implantiertes Herz gleicht dem anderen, kein implantiertes Herz gleicht dem des Wirtstieres. Meistens sind die Implantate kleiner als die Wirtsherzen, in seltenen Fällen größer; die Zahl der Herzabschnitte ist außerordentlich verschieden, meistens sind es zwei bis drei, selten vier, manchmal auch nur ein einziger. Von einer typischen Form oder gar einer typischen Krümmung des Herzschlauches kann keine Rede sein. Hieraus folgt mit einiger Wahrscheinlichkeit, daß die formbildenden Faktoren des Herzens niemals allein in den Zellen der Herzanlage gelegen sein können. Diese verhält sich somit von einer Extremitätenanlage grundverschieden. Genauere Angaben über die Form werde ich im histologischen Teil dieser Arbeit machen.

Über die Pigmentierung der operierten Larven.

Larven, die sich etwa im Beginn der zweiten Woche nach der Operation befinden, unterscheiden sich von gleich alten Kontrolltieren fast immer durch die Pigmentierung. Sie sind im allgemeinen wesentlich heller, und die sonst so regelmäßigen Pigmentverhältnisse sind nicht immer deutlich zu erkennen, die ganze Pigmentzeichnung macht einen gestörten, ungeordneten Eindruck. Dieses Hellerbleiben kann 4 bis 6 Wochen dauern; werden die Tiere noch älter, so verschwindet es mehr und mehr, und schließlich gleichen die Larven in der Pigmentzeichnung den normalen vollkommen.

Teilweise ist das hellere Aussehen durch eine geringere Entwicklung der Pigmentzellenzahl bedingt; besonders schön läßt sich das

am Schwanz der Larve studieren. Normalerweise sind zwei dunkle, nach hinten konvergierende Streifen auf beiden Seiten des Schwanzes zu beobachten, die ihre Entstehung einer großen Menge vielfach verästelter Pigmentzellen verdanken. Bei operierten Tieren findet man jedoch sehr häufig die Zahl dieser Zellen ganz erheblich vermindert, vor allem dann, wenn das implantierte Herz weit nach hinten gelagert ist. Doch lassen sich auch zahlreiche Unregelmäßigkeiten in der Anordnung der Pigmentzellen im Gesamtorganismus erkennen. So sind dieselben oft da angehäuft, wo sie normalerweise fehlen und andererseits sind häufig ganze Regionen von Pigment völlig entblößt, die gewöhnlich größere Mengen von Pigmentzellen aufweisen. Tiere, die gar keinen Kreislauf ausbilden, sind immer heller als die normalen.

Abb. 8*a*.

Abb. 8*b*.

Abb 8*a*. *Bombinator*-Larve mit an der Schwanzwurzel implantierter Herzanlage und veränderter Pigmentzeichnung. Abb. 8*b*. Kontrolltier. Erstveröffentlichung im Bildarchiv, Freiburg.

Es liegt nahe, daran zu denken, daß die Pigmentierung eine Funktion der Zirkulation ist, und *J. Loeb* hat schon vor 30 Jahren gezeigt, daß bei *Fundulus*-Embryonen die Pigmentzellen sich nur dann auf der Oberfläche der Gefäße ausbreiten, wenn Blut in ihnen strömt. *Levy* mißt hingegen der Zirkulation in den Gefäßen keine maßgebende Bedeutung zu; denn er hatte bei seinen Durchschnürungsversuchen an *Triton taeniatus* Teilembryonen ohne Herz, folglich ohne Blutkreislauf erhalten, die dennoch eine gute Pigmentierung aufwiesen. Meine Befunde, daß Larven ohne Kreislauf immer heller sind, sprechen zunächst einmal gegen die *Levy*sche Ansicht. Trotz alledem kann es aber nicht allein das Strömen des Blutes sein, das eine normale Pigmentierung bewirkt. Denn meine älteren Larven zeigten sämtlich einen guten Kreislauf und doch war die Pigmentierung gestört.

Daß jedoch die Zirkulation bei der Pigmentierung eine ganz bedeutende Rolle spielen kann, geht aus folgender Beobachtung hervor. Wie ich oben erwähnt habe, kann bei dem Kampfe zweier Herzen um das Blut das Implantat das stärkere sein und dem Herzen des Wirtstieres alles Blut entziehen, so daß dieses schließlich leer schlägt, obwohl es mit ungeheurer Intensität arbeitet. Ein solcher Ausgang hat aber immer noch eine weitere Folge.

Aus nebenstehender Abbildung ist ohne weiteres zu ersehen, daß der normalerweise vor dem Herzen befindliche, dichte Pigmentwall auf Abb. 8*b* dem Wirtsherzen auf Abb. 8*a* fehlt und nur durch wenige vereinzelte Zellen ersetzt ist. Hingegen ist das mit Blut angefüllte implantierte Herz von einem dunklen Pigmentzellenhaufen bedeckt, der die im Leben dunkelrote Blutfarbe kaum mehr hervorschimmern ließ. Abb. 4 zeigt ein gleiches Verhalten bei stärkerer Vergrößerung. Wenn das Herz keine genügende Menge Blut erhält, ist es nicht imstande, einen Pigmentwall im Pericardium sich zu bilden. Auch in Abb. 5 ist eine ähnliche Erscheinung zu beobachten. Erhält jedoch im Laufe weiterer Wochen das Wirtsherz allmählich wieder mehr Blut zugeführt, so umgibt es sich ebenso wie das Implantat mit Pigment und beide Herzen sind schließlich in gleicher Weise verhüllt.

Dies beweist, daß eine hinreichende Blutmenge sicherlich einen pigmentbildenden Faktor darstellt. Hiermit würde übereinstimmen, daß meine explantierten Herzen niemals mit Pigmentzellen umgeben waren, da ja niemals strömendes Blut in ihnen vorhanden war. Auf den Kopf implantierte Herzen bilden keinen oder nur einen minimalen Pigmentwall um sich aus, auch wenn sie in vollster Tätigkeit begriffen sind, soweit ich wenigstens bis jetzt beobachten konnte. Eine genügende Erklärung hierfür konnte ich nicht finden. Sicherlich sind aber bei der Veränderung in der Pigmentierung der operierten Tiere noch andere, mir unbekannte Faktoren beteiligt.

Über die Veränderungen bei der Darmbildung.

Die Entwicklung des Darmsystems erfährt durch die auf die rechte Bauchseite vorgenommenen Implantationen bedeutsame Veränderungen. Es liegt die Vorstellung nahe, daß das implantierte Herz die gesamten Baucheingeweide nach der anderen Seite hin verdrängen würde. Das ist aber niemals der Fall; die Dinge verhalten sich viel komplizierter, und zwar aus folgendem Grunde. Vor Einpflanzung der Herzanlage habe ich stets eine Menge Dotterzellen entfernt. Dieses Material geht also für die Bildung des Darmkanals verloren. Mit der Herzanlage habe ich aber hinwiederum einen beträchtlichen Haufen Entomesodermzellen implantiert und damit dem Organismus neues Material zur Darmbildung eingefügt. Es sind nun drei Möglichkeiten für die Ent-

wicklung eines Darmes gegeben: 1. Das Wirtstier verwendet das eingebrachte Material, wie wenn es eigenes wäre und bildet einen typisch gekrümmten und gelagerten Darm. 2. Das Implantat könnte ein Stück Darm, Leber und Gallenblase für sich bilden, ohne sich um seine Umgebung zu bekümmern; der Darm würde in solchem Falle einen Blindsack von jeweils verschiedener Größe darstellen. Denn wir haben bei der Explantation gesehen, daß der mit der Herzanlage entfernte Entomesodermhaufen ein erhebliches Selbstdifferenzierungsvermögen besitzt und Leber, Gallenblase und Darm anlegen kann. 3. Das Wirtstier verwendet das implantierte Dottermaterial zur Bildung eines einheitlichen Darmes gemeinsam mit seinen eigenen Darmbildungszellen. Hierbei hält jedoch das Implantat an seiner Eigenkrümmung fest; in diesem Falle sind Störungen in der Entwicklung eines typischen Darmsitus unvermeidlich, ein einheitlicher Darm kann nur durch einen Kompromiß zwischen Implantat und darmbildenden Zellen des Wirtstieres zustande kommen.

Bei Vereinigung von Darmstücken ist es bekanntlich für die Praxis wichtig, beide Teile in gleicher oval-caudaler Orientierung aneinander zu nähen, um eine antiperistaltische Bewegung des implantierten Stückes zu vermeiden. Die Ausführung dieser Vorsichtsmaßregel ist mir bei der Implantation eines Haufens indifferenzierter Dotterzellen bis jetzt nicht möglich gewesen. Sie ist auch gar nicht nötig, wenn man im Stadium der beginnenden Schwanzknospe und früher operiert.

Im Organismus wird nun aus Eigen- und implantiertem Material ein einheitlich durchgängiges Darmrohr geformt, wobei das Implantat seine offenbar fest determinierte Krümmungstendenz zum Teil beibehält. Es kommt also die 3. Möglichkeit, die des Kompromisses, zur Geltung. Den Beweis hierfür werde ich im histologischen Teil dieser Arbeit vervollständigen, hier sollen zunächst die topographischen Veränderungen im Darmsitus dargestellt werden.

Normalerweise findet die Darmbildung auf folgende Art statt. Zuerst entwickelt sich im Vorderdarm die Gastroduodenalschlinge mit einer Krümmung nach links, die sich mit ihrem distalen Ende allmählich quer gegen die Medianebene hinüberlegt, wo sie auch in den Mitteldarm übergeht. Gleichzeitig beginnt sich der Enddarm nach links vorzustrecken, wodurch der dotterreiche Mitteldarm in eine quere Lage gebracht wird. Dieser beginnt durch Resorption seiner Dottermasse ein offenbar sehr starkes Längenwachstum, formt eine Schlinge, deren beide Teile sich dann in einander entgegengesetzten Spiraltouren aufwickeln, wie aus *Presslers* Rekonstruktionen ausgezeichnet zu ersehen ist. Schließlich schiebt die Masse der Mitteldarmschlingen den Vorderdarm mit seinen Drüsen nach rechts hinüber. Wenn sich bei *Goette* auch Andeutungen dazu finden, daß die Bildung der Darmspiralen ihren Grund im fortschreitenden Längenwachstum des Darmes bei mangelndem Raume habe, so erblickt er doch vor allem in der asymmetrischen Anlage des dorsalen Pancreas die Ursache für die gesamte Darmasymmetrie. Einen bedeutenden Fortschritt zum Verständnis des Darmsitus bedeuten hingegen *Spemanns* Experimente, die nach Umdrehung eines kleinen Stückes im Dach der Vorderdarmanlage einen

ganzen Situs viscerum inversus erkennen ließen. Hierbei zeigte sich ferner, daß das dorsale Pancreas auf die Entstehung eines Situs inversus ohne jeden Einfluß ist, sondern daß eine dem Darm selbst inhärente Wachstumstendenz die asymmetrische Lagerung bewirkt.

Meine Befunde über die Darmverlagerung stellen eine Bestätigung der Resultate *Spemanns* und *R. Meyers* dar, die allen Teilen des Darmkanales eine gewisse Krümmungstendenz zuweisen, durch deren Zusammenwirken dann der normale Situs viscerum entsteht.

Einen Situs inversus viscerum zeigt anscheinend Abb. 9. Denn normalerweise müßte die Darmspirale links oben beginnen und auf der rechten Seite mit nach links gerichteter Krümmung verlaufen.

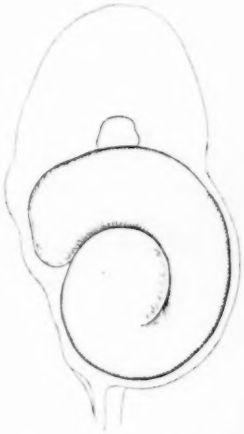


Abb. 9. 3 Wochen alte, operierte Larve von *Bombinator pachypus* mit veränderter Darmbildung. 9 × vergr.

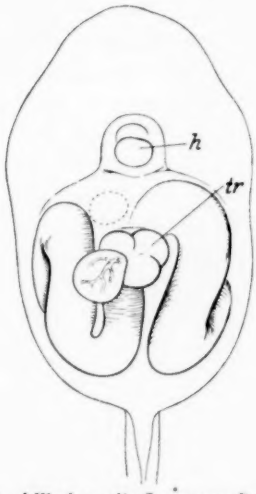


Abb. 10. 4 Wochen alte Larve von *Bombinator pachypus* mit veränderter Darmbildung. *h* Herz, *tr* implantiertes Herz. 9 × vergr.

Dem außerordentlichen Dotterreichtum nach handelt es sich wohl vorwiegend um Mitteldarm. Die Atrophie der rechten Seite infolge des hier rückwärts verlagerten, nicht sichtbaren implantierten Herzens ist deutlich zu erkennen. Die gesamte Darmbildung hat bei diesem Tiere mit dem Entwicklungstempo der übrigen Organe nicht gleichen Schritt gehalten; denn sie müßte bei dem Alter der Larve von 3 Wochen schon bedeutend weiter fortgeschritten sein.

Entnimmt man dem Embryo eine beträchtliche Dottermenge, ohne eine entsprechende Masse von Dotterzellen wieder zu implantieren, so bildet das Tier mit dem geringeren Anlagematerial auch einen wesentlich kürzeren Darm. Obwohl nun bei weiterem Wachstum des Tieres der Darm einen wesentlich größeren Raum zu seiner Ausdehnung zur Verfügung hat, bildet er dennoch eigentümliche Krümmungen

und Schlingen, die durch Raumbeengung gar nicht zu erklären sind; die Tendenz hierzu muß vielmehr im Darm selbst gelegen sein.

In Abb. 10 ist der Darm im Verhältnis zum Alter der Larve viel zu kurz. Trotzdem läßt die eigentümliche Schlingenbildung einen gewissen Ansatz zur Gestaltung der Spiralen beiderseits erkennen. Nur müßte der rechte absteigende Schenkel quer nach der linken Seite hinüberziehen, statt sogleich im spitzen Winkel aufwärts nach der Mitte hin emporzustreben. Die Lage des mit der Darmwand fest verbundenen implantierten Herzens macht immerhin wahrscheinlich, daß wir in dem aufsteigenden Darmschenkel implantiertes Material mit eigener Krümmungstendenz zu suchen haben. Daß bei der allmählichen Verschiebung des seitlich implantierten Herzens dem Zug des Darmes eine wichtige Rolle zukommt,

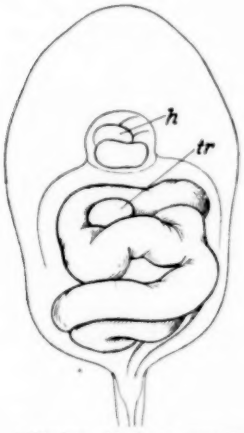


Abb. 11. 4 Wochen alte Larve von *Bombinator pachypus* mit veränderter Darmbildung. *h* Herz, *tr* implantiertes Herz. 9 × vergr.

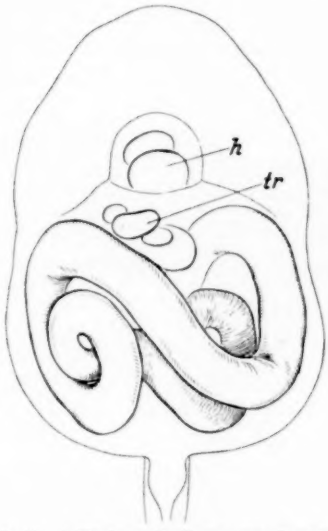


Abb. 12. 4 Wochen alte Larve von *Bombinator pachypus* mit veränderter Darmbildung. *h* Herz, *tr* implantiertes Herz. 9 × vergr.

halte ich für äußerst wahrscheinlich. Vor dem implantierten Herzen fand sich,aus dem Bauchektoderm hervorragend, eine gestielte Cyste, in deren Wand sich stark gefüllte Blutgefäße befanden; diese bezogen ihr Blut direkt aus dem implantierten Herzen.

Wesentlich deutlicher ist eine spiralige Aufrollung des Darmes in Abb. 11 zu beobachten. Gegenüber dem Normalen besteht jedoch hier der Unterschied, daß die Spitze der Schneckenwindung statt nach links außen, gerade nach unten sieht, und daß die rechte Darmspirale infolgedessen statt daneben, darüber zu liegen kommt. Welche Teile des einheitlichen Darmrohres Produkt des Implantates, welche Produkt der Dotterzellen des Wirtstieres sind, läßt sich hier nicht be-

stimmen. Es wäre natürlich möglich, daß die obere Schlinge zum Teil aus Implantatzellen besteht, da ja das Herz hieran fixiert ist. Da bei der Operation eine Menge darmbildenden Dottermateriales der rechten Seite etwa in der Mitte entfernt wurde, so wäre auch die Lage der implantierten Schlinge an Stelle der fehlenden rechten Spirale wohl erklärlich. Infolge der starken Eigenkrümmung des implantierten Darmstückes würde dann die linke Spirale nach abwärts gedrückt worden sein. Dies ist aber nur eine Vermutung.

In Abb. 12 sehen wir noch ein weiteres Beispiel merkwürdiger, sicherlich durch Kompromiß entstandener Darmbildung. Rechts wie links finden sich Ansätze zur Spiralenbildung; von typischer Gestaltung ist auch hier keine Rede. Der linke Vorderarmabschnitt senkt sich sehr stark nach abwärts, um dann rechts oben mit einer der typischen Schraubenwindung gerade entgegengesetzten Spirale eine Schlinge zu formen; das Endstück dieser Schlinge begibt sich schräg abwärts auf die linke Seite und geht hier in den Enddarm über. Auch hier wäre möglich, daß die rechts gelegene Spirale aus Implantatzellen besteht, weil das implantierte Herz daran fixiert ist. Daß dann bei weiterer Entwicklung das pulsierende Herz und die massive implantierte Leber sekundär den Situs des leicht beweglichen Darmes beeinflussen, ist ohne weiteres anzunehmen.

Der Darm der in den Abb. 10, 11, 12 dargestellten Larven erwies sich als durchgängig und war mit aufgenommener Nahrung dicht angefüllt.

Histologischer Teil.

Über die Form des implantierten Herzens.

Zu einer klaren Analyse der Form eines Organs sind Modelle nötig. Ich habe einstweilen davon abgesehen, solche zu verfertigen, weil es mir erst gegen Schluß der Experimentierperiode gelungen war, die Herzanlage in ganz bestimmter Orientierung zu den Ebenen des Körpers zu implantieren. Denn das ist, wie wir aus *Harrisons* Extremitätentransplantationen wissen, Voraussetzung, um sich über einen formbestimmenden Einfluß der Umgebung auf die Herzanlage ein Urteil zu verschaffen. In einer späteren Arbeit gedenke ich diese Lücke auszufüllen.

In Abb. 13 sehen wir ein Herz, das am 4. Tage nach der Operation fixiert wurde und einen Puls von 10 Schlägen in der Minute hatte. Bei der Implantation waren nur sehr wenig benachbarte Entomesodermzellen mit eingepflanzt worden, vielleicht ein Grund, warum das Herz so sehr hinter dem Wirtsherzen an Größe zurückblieb. Es sind zwei Abschnitte zu erkennen, ein der Leber benachbarter, größerer, mit dotterreichen Erythroblasten gefüllter Teil und ein kleinerer, lateraler an das Ektoderm grenzender Abschnitt. Die Herzwand ist verschieden dick und besteht aus einer Reihe von dotterreichen, histo-

logisch undifferenzierten Zellen, die sich scheinbar durch nichts von dem angrenzenden Leber- oder Dottergewebe unterscheiden. Der quer getroffene kleine Kanal ist der Urnierengang.

Ein etwas älteres Entwicklungsstadium läßt Abb. 14 erkennen. Das längsgetroffene implantierte Herz ist wesentlich größer, eine Sonderung in zwei Abschnitten sehr deutlich. Die Wand besteht ebenfalls noch aus dotterreichen, undifferenzierten, dem angrenzenden Lebergewebe gleichenden Zellen. Das Herz ist 6 Tage nach der Operation fixiert und hatte einen Puls von 68 Schlägen in der Minute. Es steht mit der implantierten Leber in inniger Verbindung.

Abb. 13. Transplantierte Herzanlage am 4. Tage nach der Operation. *h* Herz, *l* Leberzellen, *u* Urnierengang. 120 × vergr.

In Abb. 15 ist ein Herz dargestellt, das bereits am 3. Tage nach der Operation fixiert wurde. Es stammt von einem älteren Embryo und wurde auf einen jüngeren übertragen; es zeigte 32 Pulsschläge in der Minute. Es scheint sein Wachstumstempo in jüngerer, ortsfremder Umgebung beibehalten zu haben und ist schon deutlich in drei Abschnitte gegliedert. Seine Zellen sowie die im Lumen befindlichen Erythroblasten sind noch sehr dotterhaltig. Das Herz stand auf einer Seite mit dem Gefäßsystem des Wirtstieres in Verbindung, ein Umstand, der für seine Entwicklung von der größten Bedeutung ist.

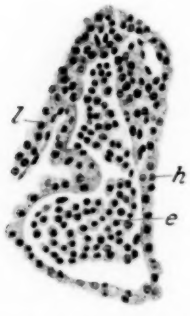


Abb. 14. Transplantierte Herzanlage am 6. Tage nach der Operation. *h* Herz, *l* Leberzellen, *e* Erythroblasten. 120 × vergr.

Abb. 15. Transplantierte, ältere Herzanlage wie in Abb. 14. *h* Herzwand, *e* Erythroblasten. 120 × vergr.

Es zeigt sich nämlich, daß die implantierten Herzen stets dann hinter dem Wirtsherzen an Größe erheblich zurückbleiben, wenn keine Verbindung mit dem allgemeinen Kreislaufsystem zustande kommt. Führt nur ein einziges Gefäß zum implantierten Herzen, derart, daß es wie ein Appendix in das Gefäßsystem eingeschaltet ist, so kann es

ungefähr so groß wie das Wirtsherz werden, wenn auch in der Form nicht im mindesten mit diesem vergleichbar. Für die Entwicklung der Größe ist es von außerordentlichem Einfluß, daß das implantierte Herz mit seinen beiden Enden zugleich Anschluß an den Blutkreislauf gewinnt und somit einen Blutstrom stets nach der gleichen Richtung hin zu treiben hat. Denn für die Entwicklung des Herzens ist das Vorhandensein eines Blutstromes wahrscheinlich ein wichtiger Faktor; das Herz arbeitet sich eben mit dem Blut in seine Form und in seine Größe hinein.

Abb. 16. Herz des Wirtstieres, dem das in Abb. 15 dargestellte Herz implantiert war. 120 × vergr.

Zum Vergleich führe ich in Abb. 16 das Herz des Wirtstieres von Abb. 15 an. Der erhebliche Größenunterschied zwischen den beiden Herzen springt sogleich ins Auge; er kann aber in vielen Fällen noch bedeutender sein, vor allem dann, wenn das implantierte Herz überhaupt keinen Anschluß an das Gefäßsystem gefunden hat, schließlich zu keiner Weiterentwicklung mehr kommt, seinen Puls einstellt und obliteriert.

Abb. 17 gibt einen Schnitt durch ein Herz am 7. Tage nach der Implantation wieder. Es hatte Anschluß an den allgemeinen Blutkreislauf und stand infolgedessen an Größe nicht weit hinter dem Wirtsherzen zurück. Auch die histologische Differenzierung des Herzgewebes ist weiter fortgeschritten. An Stelle des dotterhaltigen Zellmaterials ist typisch embryonales Muskelgewebe getreten. In die Mitte des Lumens hineinragend finden wir weiterhin deutlich differenziertes, klappenbildendes Gewebe. Die Wand des unten gelegenen Herzabschnittes, der wohl den Ventrikel darstellt, ist außerordentlich dick und viel stärker entwickelt als die Ventrikelwand des Wirtsherzens. Feine Muskelfibrillen sind in großer Anzahl erkennbar. Es waren nur drei Abschnitte des

Abb. 17. Transplantiertes Herz am 7. Tage nach der Operation. *v* Ventrikel, *k* klappenbildendes Gewebe. 120 × vergr.

transplantierten Herzens zur Entwicklung gekommen: Sinus, Atrium und Ventrikel; letzterer endigte blind. Das Herz muß demnach das in ihm befindliche Blut in zweckloser Weise immer hin und her gepumpt haben. Vielleicht beruht auf dieser angestrengten Tätigkeit auch die ganz beträchtliche Dicke der Ventrikelwand. Die Pulszahl betrug am Tage der Fixation 68 Schläge in der Minute, während das Wirtsherz deren 64 hatte.

In Abb. 18 sehen wir einen Schnitt durch ein auf den Kopf implantiertes Herz, das am 10. Tage nach der Operation fixiert worden war und auch auf Abb. 24 zum Teil dargestellt ist. Der Ventrikel stellt nur eine mit einer sehr geringen Aushöhlung versehene, beinahe kompakte Muskelmasse dar und konnte sich offenbar, da es wie ein kleiner Appendix den stark entwickelten Abschnitten Sinus und Atrium anhing, nur in ganz minimaler Weise an der Fortbewegung des Blutstromes beteiligen. Ins Lumen hineinragendes, klappenbildendes Gewebe ist an seiner Form und an den dicht beieinander liegenden dunklen Kernen leicht zu erkennen. Die Grenze zwischen dem Ventrikel und dem wahrscheinlich den Vorhof bildenden Abschnitt tritt deutlich hervor. Weitere Angaben über die Tätigkeit dieses Herzens werde ich im nächsten Kapitel machen.

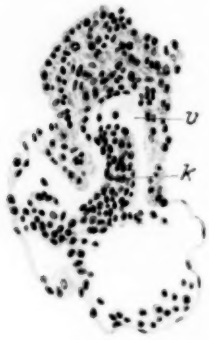


Abb. 18. Transplantiertes Herz am 10. Tage nach der Operation. *v* Ventrikel, *k* klappenbildendes Gewebe. 120× vergr.

Einen Längsschnitt durch das transplantierte Herz einer 10 Wochen alten Larve zeigt Abb. 19, die wahrscheinlich vier Abschnitte nebst anschließendem Lebergewebe erkennen läßt. Der an die Leber grenzende und mit dieser verbundene oberste Abschnitt ist zweifellos der Sinus, der nächstfolgende, ausgedehnteste Hohlraum der Vorhof. Die in die Mitte dieses Abschnittes hineinragende Leiste ist wohl als Septum atriorum zu deuten. Der unterste Abschnitt ist mit Sicherheit der Ventrikel, charakterisiert durch die Stärke seiner Wand und durch das muskuläre Trabekelsystem mit den feinen radiären und queren Leisten und den dadurch entstandenen, blutgefüllten Nebenkammern. Der angrenzende, große Gefäßquerschnitt ist wahrscheinlich als Bulbus zu betrachten.

Das Herz war dauernd in voller Tätigkeit und füllte sich bei der Diastole stets dunkelrot mit Blut an, welches es bei der Systole völlig entleerte, ein sicheres Zeichen, daß es in irgendeinen Kreislauf mit beiden Enden zugleich eingeschaltet sein mußte. Es stand, wie schon

unter der binokularen Lupe zu erkennen war, hinter dem Wirtsherzen nicht im mindesten an Größe zurück; auch das durch die Pigmentzellen ganz dunkle Perikard weist auf einen kräftigen Funktionszustand des implantierten Herzens hin.

Trotzdem ist von einer typischen Formbildung desselben kaum zu sprechen. Wie das Studium der Serienschnitte ergibt, bleibt der Ventrikel an Größe weit hinter den anderen beiden Herzabschnitten und auch hinter dem Ventrikel des Wirtsherzens zurück. Da aber das Gesamtvolumen des Implantates dem des Wirtsherzens ungefähr gleicht, so müssen infolgedessen die beiden anderen Abschnitte bedeutend stärker als normal entwickelt sein. Die Proportionen des Herzens sind also ganz erheblich gestört. Das hat ohne Zweifel seinen Grund darin, daß merkwürdigerweise keine direkte, genügend weite Verbindung zwischen Atrium und Ventrikel zustande gekommen war.

Abb. 19. Transplantiertes Herz, 10 Wochen nach der Operation. *v* Ventrikel, *a* Atrium, *s* Sinus, *l* Leberzellen, *p* Perikard. 60 × vergr. (Längsschnitt.)

Nach der Abbildung ist eine dichte, großenteils bindegewebige Scheidewand zwischen beiden Abschnitten vorhanden. Diese wird in den folgenden Schnitten immer dünner, typische Endokardkissen bilden sich aus, es bleibt aber doch immer eine trennende Lamelle bestehen. Die Kommunikation zwischen Atrium und Ventrikel findet daher gar nicht durch eine einem Auricularkanal gleichzusetzende Bildung statt, sondern durch ein aus der Vorhofswand aussprossendes Blutgefäß, das dann das Blut in die Kammer hineinleitet. Infolgedessen ist eine Hypertrophie der Muskelwand und eine beträchtliche Dilatation von Sinus und Atrium zustande gekommen.

Hieraus ist ersichtlich, daß einem direkt einstürzenden Blutstrom eine gestaltende Wirkung zukommen muß, wie dies ja schon von *Greil*, *Beneke* und neuerdings von *Benninghoff* hervorgehoben wurde. Die geringe Stoßkraft des in die Kammer einströmenden Blutes, das

erst einen Umweg durch ein mittelgroßes Gefäß machen mußte, sowie auch die wahrscheinlich verminderte Blutmenge sind sicherlich an dem Kleinbleiben des Ventrikels ursächlich beteiligt.

Hinzu kommt noch, daß dieser Abschnitt das Blut gar nicht in den großen Kreislauf zu werfen brauchte, sondern es durch das große, wahrscheinlich dem Bulbus arteriosus entsprechende Gefäß, das auf der Abb. 19 gerade quer getroffen ist, auf kürzestem Wege nur zur Verbindungsstelle zwischen Leber und Sinus hinübertrieb. Der Ventrikel mußte also das Blut nur durch ein breites Rohr, das höchstens so lang war wie das ganze Herz, hindurchpumpen, konnte also diese verhältnismäßig minimale Arbeit mit einer bedeutend geringeren Masse von Muskulatur leisten. Die angrenzende, an den Darm des Wirtstieres fixierte Leber stand ihrerseits wieder mit dem allgemeinen Blutgefäßsystem in Verbindung, wodurch eine Arterialisierung des im transplantierten Herzen kreisenden Blutes möglich war. Häufig ließ sich übrigens ein direkter Anschluß der transplantierten Leber mit der Leber des Wirtstieres beobachten.

Wenn auch das klappenbildende Gewebe und die Ausbildung des Trabekelsystems Hinweise für die Orientierung der Herzabschnitte geben, so kommen doch in vielen Fällen unverständliche Herzformen vor. Soweit ich bis jetzt erkennen konnte, vermag eine implantierte Herzanlage überhaupt niemals ein typisches Herz zu entwickeln. Ein blind endigender Herzschlauch bleibt nicht nur in der Größe, sondern auch im Entwicklungstempo erheblich hinter dem Wirtsherzen zurück. In einem solchen Fall kann der Ventrikel des Wirtsherzens bereits aus differenzierten Muskelfibrillen gebildetes Trabekelwerk aufweisen, während der dickwandige Ventrikel des implantierten Herzens noch aus einem dotterreichen Zellkomplex sich zusammensetzt, der vielfach nur ein ganz minimales Lumen in sich einschließt.

Manchmal können einfach an den Blutkreislauf angeschlossene Herzen fast die Größe des Wirtsherzens erreichen, wobei sie mit Erythrocyten zum Platzen vollgestopft sind. Das Herz erhält offenbar längere Zeit vom Organismus immer neues Blut hinzugeführt, ist aber nicht imstande, dasselbe bei der Systole völlig auszuleeren. So kommt immer mehr Blut ins Herz und immer weniger hinaus. Eine starke Arbeitshypertrophie der Muskulatur sämtlicher Abschnitte, vor allem des Ventrikels, ist die Folge. Die Wanddicke des letzteren übertrifft die des Ventrikels vom Wirtstierherzen um ein Vielfaches. Trotzdem kommt aber infolge der angestauten, bald kaum mehr beweglichen Blutmasse die Ausbildung eines Trabekelwerkes nicht zustande, ja es kann zuletzt eine bindegewebige Organisation des gesamten Herzinhaltes eintreten, obwohl die Pulsationen fortdauern.

Dies weist mit Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß nur einem gleich-

gerichteten Blutstrom eine formgestaltende Wirkung zukommen kann. Fehlt der Blutstrom überhaupt, wird die Menge des Blutes verringert, wird die Strömungsrichtung verändert oder der Strom wiederum völlig aufgehoben, so ist eine anatomische Veränderung im Aufbau des Herzens wie später in der Ausbildung des gesamten Innenreliefs mit absoluter Sicherheit die Folge. Daß das Herz eben eine ausgesprochen funktionelle Struktur besitzt, wie *Roux* schon vor langer Zeit hervorgehoben hat, tritt bei der embryonalen Transplantation aufs schönste in Erscheinung.

Benninghoffs Angabe, daß sich ein Zusammenhang zwischen Muskelverlauf und Strömungsart an den Herzen direkt ablesen lasse, besteht entschieden zu Recht. Bei erwachsenen Individuen die Strömungsart aus dem Innenrelief der Herzmuskelwand zu analysieren, ist wahrscheinlich ein erfolgreiches Beginnen und schon vielfach versucht worden. Beim Embryo aber liegen die Dinge wesentlich anders, da sehr wohl „funktionelle" Strukturen des Herzens entstehen können, ohne daß auch nur eine einzige Blutzelle ins Innere des Herzens gelangt wäre. Wenn *Beneke* behauptet, die Trennung von Vorhof und Kammer sei aus mechanischen Gründen erfolgt, so ist das sicher nicht ohne weiteres richtig. Denn wie meine Explantationsversuche gezeigt haben, können sogar alle vier Abschnitte des Herzschlauches gebildet werden, ohne daß Blut hierdurch zirkuliert wäre. Welchen formgestaltenden Anteil bei der normalen Herzentwicklung im Herzen selbst oder in seiner Umgebung liegende Faktoren oder der Blutstrom im Einzelnen haben, mögen künftige Experimente genauer entscheiden, als mir dies bis jetzt möglich war.

Eine kaum mit Sicherheit analysierbare Herzform zeigt Abb. 20. Das implantierte, an der vorderen Bauchwand gelegene Herz stammt von einer 10 Wochen alten Unkenlarve und hat die Größe des Wirtsherzens erreicht. Der abgebildete Querschnitt nimmt etwa den gleichen Raum wie ein Querschnitt durch den Ventrikel des Wirtsherzens ein. Es ist hier außerordentlich schwer, aus diesem scheinbar völlig regellosen Fasergewirr die Natur der Abschnitte bestimmen zu wollen. Aus dem Studium der Serienschnitte ergibt sich mit Wahrscheinlichkeit, daß der Abschnitt *v* den Ventrikel, *s* den Sinus und *a* das Atrium darstellt. Der Ventrikel ist durch das deutlich sichbare, wenn auch gänzlich unregelmäßige Trabekelsystem charakterisiert. Ansätze von Endokardwülsten stehen am Übergang zum Vorhof, dessen Lumen jedoch außerordentlich durch einwachsendes Bindegewebe verengt wird. Im Bindegewebe selbst sind wieder eine Reihe von kleineren Gefäßquerschnitten bemerkbar.

Der Vorhof steht durch eine hier nicht sichtbare, sehr breite Öffnung mit dem vermutlichen Sinus in Verbindung, in welchen ein von

der transplantischen Leber stammendes Blutgefäß einmündet. Besonders bemerkenswert ist in diesem Abschnitt, was in geringerem Grade für das ganze Herz gilt, die äußerst starke Differenz in der Wanddicke. Wir finden links eine stark entwickelte Muskulatur, während oben die Muskelwand durch feines Bindegewebe ersetzt ist. Auch bei den anderen Abschnitten ist ein völlig regelloses Verhalten im Bau des Innenreliefs zu beobachten. Wenn tatsächlich dem Blutstrom der allein formgestaltende Einfluß zuzuschreiben wäre, so müßten in diesem Herzen die sonderbarsten Strömungsverhältnisse geherrscht haben. Wahrscheinlich war zunächst die Strömungsgeschwindigkeit und somit die formbildende Stoßkraft des Blutstromes eine sehr geringe. Das geht schon daraus hervor daß im Vorhof sich eine große Menge Bindegewebe breit

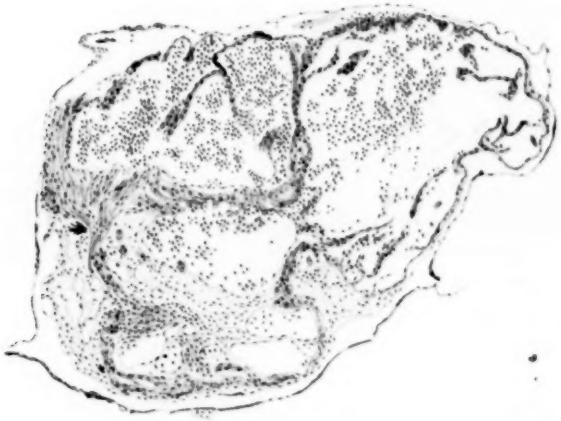


Abb. 20. Transplantiertes atypisch gestaltetes Herz, 10 Wochen nach der Operation. 60× vergr. (Querschnitt).

macht, wenn wir nicht annehmen wollen, daß die verarbeitete Blutmenge zu gering für das Herz war. Dort scheint dies, nach der Zahl der vorhandenen Erythrocyten zu schließen, nicht der Fall gewesen zu sein.

Das Herz stand durch ein feines Blutgefäß mit der transplantierten Leber in Verbindung, durch welches es wohl sein Blut zugeführt erhielt. Ein sehr großes Gefäß leitete das Blut vom Herzen weg, schien aber doch keine ganz genügende Abflußbahn darzustellen, da es mit Erythrocyten dicht vollgestopft war.

Wenn wir auf jeden Fall für die Entwicklung der typischen Herzform ein Zusammenwirken der in der Herzanlage selbst gelegenen Faktoren mit dem Blutstrom anzunehmen haben, so wäre es doch noch möglich, daß in der Umgebung des Herzens lokalisierte Faktoren gleichfalls formgestaltende Einflüsse aufweisen könnten.

Dreht man nämlich eine herausgenommene Herzanlage um 180° und pflanzt sie an Ort und Stelle wieder zurück, so entwickelt sich ein Herzrohr, das, wie die mikroskopische Untersuchung ergibt, seinen arteriellen Teil an normaler Stelle hat, wie wenn nicht gedreht worden wäre. Da dies der Fall ist, ehe Blut zirkuliert, so müssen offenbar aus der Umgebung stammende Einflüsse diese histologische Umstimmung des Gewebes bewirkt haben. Daß die Herzanlage in der Tat um 180° gedreht wieder eingepflanzt ist, läßt sich dadurch schon äußerlich leicht feststellen, daß man einige von den Saugnäpfen stammende, pigmentierte Zellen gleichsam als Marke mit herausschneidet.

Entgegen den durch die Transplantation erzielten Resultaten habe ich jedoch mit diesem Experiment in allen zehn Fällen, wo ich es angewendet habe, einen funktionellen Mißerfolg erlebt. Es trat, obwohl das Implantat in kürzester Zeit aufs beste angeheilt war, jedesmal Ödem ein und die Tiere gingen mit Sicherheit nach wenigen Tagen zugrunde. Durch die Drehung des Herzens scheint eben doch eine, in wenigstens diesem Stadium nicht mehr regulierbare, Störung eingetreten zu sein. In einer späteren Arbeit werde ich genauer auf diese Dinge zurückkommen[1]).

Über formale Regulationen des Organismus.

In Abb. 21 sehen wir einen Querschnitt durch den hinteren Teil einer Larve, die am 6. Tage nach der Operation fixiert wurde. Das Implantat war in diesem Stadium noch wie ein Bruchsack aus dem Körper hervorgewölbt, der Schnitt ist gerade durch die Mitte des implantierten Stückes hindurchgeführt. Am Körper des Wirtstieres ist außer einer nicht ganz glücklichen Fixation nichts Besonderes zu bemerken. In dem hervortretenden Ektodermsack liegt das implantierte Herz mit zwei deutlich erkennbaren Abschnitten, einem Endocardhäutchen und einer noch völlig undifferenzierten, dotterreichen Wandung. Es steht, wie aus den folgenden Schnitten hervorgeht, mit den implantierten Leberzellen wohl durch seinen Sinusteil in Verbindung.

Die Masse der implantierten Entomesodermzellen ist, wie die späteren Schnitte zeigen, sehr beträchtlich, sie füllt in einiger Entfernung vom Herzen den ganzen vom Ektoderm gebildeten Raum vollständig aus. Es ist klar, daß ein wachsendes Herz zur Ausführung seiner Pulsationen einen freien Raum benötigt, den es sich durch rücksichtsloses Beiseitedrängen seiner Nachbarschaft — wenigstens wenn es in ortsfremde Umgebung versetzt wird — auch verschafft. Das feine,

[1]) *Anmerkung bei der Korrektur:* Drehung der Herzanlage im Stadium der Medullarplatte um 180° ergibt ein in normaler Richtung pulsierendes Herz, ebenso Drehung um 90° im Stadium der beginnenden Schwanzknospe (Juni 1924).

unter dem Ektoderm gelegene, diesen Raum einschließende Häutchen ist wohl als Perikard anzusprechen.

Das Herz steht an Größe wohl infolge des fehlenden Anschlusses an den allgemeinen Blutkreislauf hinter dem Wirtstierherzen ganz erheblich zurück. Die Zahl seiner Pulsschläge betrug 40 in der Minute, das Wirtsherz hatte im Augenblick der Fixation die gleiche Frequenz.

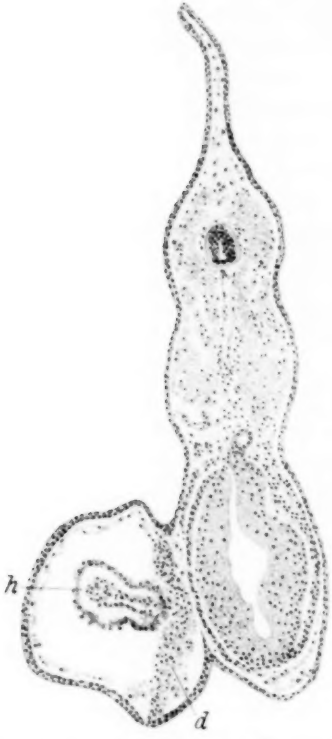


Abb. 21. Operierte Larve, am 6. Tage nach der Operation fixiert. *h* transplantiertes Herz, *d* transplantierte Dotterzellen. 60 × vergr.

Obwohl im vorliegenden Fall keine harmonische Verbindung zwischen Implantat und Wirtstier zu beobachten war, ersteres vielmehr als ein fast abgeschlossener Organkomplex der Larve aufsaß, kam es im Wirtstier zu Störungen. Es zeigte sich eine starke Verringerung seines Pigments, die besonders am Auge deutlich in Erscheinung trat. Vielleicht lag aber auch gerade in der parasitären Eigenschaft des Implantates der Grund zu jener Beobachtung.

Der in Abb. 22 dargestellte Querschnitt einer 8 Tage nach der Operation fixierten Larve läßt sogleich die starke Asymmetrie des Tieres erkennen; der ventrale Teil des Organismus, der dem Implantat gegenüberliegt, ist bedeutend stärker entwickelt. Der mit *h* bezeichnete Abschnitt stellt zwei Teile des implantierten Herzens dar, in welchen sich zahlreiche Erythrocyten befinden. Das Herz steht in direktem Zusammenhang mit der implantierten Leber, in deren weite Kapillaren es das Blut, infolge dieser einzigen Verbindung, hinein- und wieder herauspumpt. Die an die Leber grenzende, dunkle, homogen erscheinende Zellmasse wird von Dotterzellen gebildet. Doch findet hier zweifellos eine ganz beträchtliche, gestaltende Tätigkeit statt, wie die dichtgestellten Kerne beweisen.

Es hat den Anschein, als sei das Implantat auch hier ein völlig für sich abgeschlossener Organkomplex, wie das vorhin der Fall war. Dem ist aber nicht so; vielmehr tritt auf späteren Schnitten die hier nur teilweise angeschnittene, implantierte Dottermasse mit den Dotterzellen des Wirtstieres in eine innige, völlig unabgrenzbare Verbindung

und bildet mit ihr gemeinsam ein einziges Darmlumen, dessen obere Partie nach Abb. 22 noch ganz allein auf Kosten der Dotterzellen des Wirtstieres geformt wird.

Infolge Raummangels verzichte ich hier auf eine erläuternde bildliche Wiedergabe dieser Verhältnisse, die übrigens bei Verwendung einer pigmentierten und einer unpigmentierten Art viel schärfer in Erscheinung treten müßten, als das nach meinen bisherigen Beobachtungen der Fall ist. Denn bei den völlig gleich aussehenden Dotterzellen läßt es sich häufig gar nicht mehr entscheiden, welches Darmstück auf Kosten des Wirtstieres und welches auf Kosten des Implantates zu setzen ist. Doch verfüge ich über zahlreiche Beobachtungen, wo die Beteiligung beider Gewebe am Aufbau eines einzigen, durchgängigen, einheitlichen Darmrohres histologisch zweifellos feststeht. Leichter zu studieren ist der Vorgang einer gemeinsamen Darmbildung am Kopf, worauf ich im folgenden zurückkommen werde.

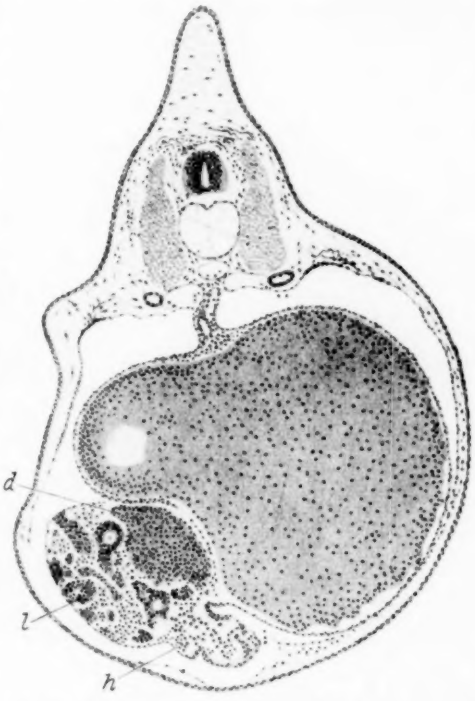


Abb. 22. Operierte, asymmetrische Larve, am 8. Tage nach der Operation fixiert. *h* transplantiertes Herz, *l* transplantierte Leber, *d* transplantierte Dotterzellen. 60 × vergr.

Es ist klar, daß ein mechanisch tätiges Organ, wie es das Herz nun einmal ist, in einem so ungeheuer komplizierten Gebilde wie dem Kopf die schwersten Veränderungen bewirken muß. Das Vorhandensein einer hochgradigen Selbstdifferenzierungsfähigkeit embryonaler Organe im Kopf anurer Amphibien ist ja schon lange durch die Untersuchungen *Schapers* bekannt. Durch die Entfernung des Gehirns und Rückenmarks wurde gezeigt, daß das Zentralnervensystem in einer gewissen frühen Entwicklungsperiode keinen bestimmenden Einfluß auf die typische Entwicklung des embryonalen Organismus hat. So fand sich trotz fehlenden Gehirns eine fast normale Differenzierung und Formentwicklung des Primordialcraniums und knorpeligen Visceralskelets nebst der zugehörigen Muskulatur.

Ich kann *Schapers* Angaben entschieden bestätigen, doch liegen bei meinen Experimenten die Verhältnisse wesentlich komplizierter. Denn

der Organismus hat nicht nur den vor der Implantation gesetzten Verlust an Ektoderm, Gehirnanlage und Mesodermzellen auszugleichen, er muß auch das Implantat sich irgendwie einordnen und tut dies in einer ganz erstaunlichen Weise. Daß durch das implantierte Herz, durch die Lebermasse und die Gallenblase die Ausbildung des Kopfskelets überdies starke Umformungen erfährt, ist von vornherein anzunehmen.

Kurz nach der Operation steht die mit Ektoderm überkleidete, implantierte Zellmasse wie ein mächtiger Bruchsack von dem Kontur des Kopfes ab, wird aber mit der Zeit mehr und mehr einnivelliert, so daß sie schließlich von außen her gar nicht mehr zu erkennen ist.

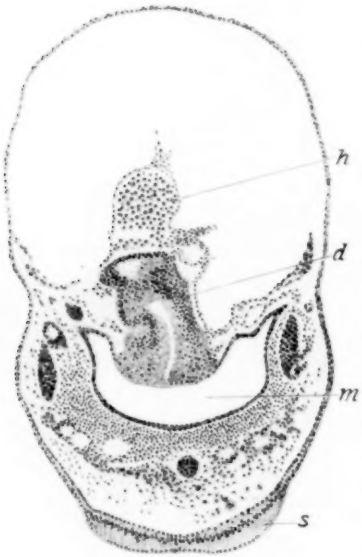


Abb. 23. Querschnitt durch den Kopf einer am 5. Tage nach der Operation fixierten Larve. *h* transplantiertes Herz, *d* transplantierte Dotterzellen, *m* Mundhöhle. *s* Saugnäpfe. 60 × vergr.

Abb. 23 zeigt einen Querschnitt durch den Kopf einer Larve am fünften Tage nach der Operation in der Höhe der Saugnäpfe. Vom Gehirn ist keine Spur vorhanden; statt dessen liegt gerade in der Mitte ein mit Erythrocyten gefüllter Abschnitt des implantierten Herzens in einem großen, nur von Ektoderm überkleideten Hohlraum. Das implantierte Herz hatte 36 Pulsschläge, während das Wirtsherz 24 in der Minute aufwies. Ein Kiemenkreislauf war vorhanden, Augen und Labyrinthbläschen nicht ausgebildet. Eine Regeneration des Gehirns war in weitem Umfange um das Herz verhindert worden, sicher aber nicht allein durch dessen pulsatorische Bewegungen, wie bald zu ersehen sein wird.

Das Herz steht wie gewöhnlich mit der gleichzeitig implantierten Entomesodermmasse in Verbindung. In diesem Dotterhaufen sind bedeutsame formative Vorgänge zu erkennen. Infolge der oben erwähnten Selbstdifferenzierungsfähigkeit des präsumptiven Darmmaterials bildet sich auch im Kopfe, also in ortsfremder Umgebung ein regelrechtes Darmstück. Da vor der Implantation das Dach der Mundbucht nebst Teilen des Gehirns entfernt worden war, so wird nunmehr typisches Darmmaterial zur Bildung der Mundhöhle mit verwendet, was aus Abb. 23 ohne weiteres zu ersehen ist. Die implantierten Dotterzellen entwickeln sich zu typischen, zylindrischen Darmzellen, soweit sie nicht

Leber, Pankreas oder Gallenblase gebildet haben; sie werden also durch ihre Umgebung nicht beeinflußt, sich in Mundhöhlenepithel umzuwandeln. Sie haben ferner ihre Eigenschaft ein Darmstück zu formen nicht verloren; denn diejenigen Zellen, die nicht direkt zur Begrenzung der Mundhöhle verwendet werden, bilden ein kleines Darmdivertikel, das aber immer mit der Mundhöhle sich in offener Kommunikation befindet.

In Abb. 24 haben wir einen Querschnitt durch den Kopf einer Larve vor uns, die am 10. Tage nach der Operation fixiert worden war. Etwa die Hälfte des Schnittes nimmt ein Hohlraum ein, in welchem sich an Stelle der Mundhöhle mit dem umgebenden Gewebe und statt des fehlenden rechten Auges das implantierte Herz mit der Leber befindet. Wie gewöhnlich sind beide, was aber erst aus den folgenden Schnitten hervorgeht, miteinander verbunden. Zwei getroffene Abschnitte des Herzens, wahrscheinlich Sinus und Atrium sind von ganz beträchtlicher Ausdehnung, einige wenige Erythrocyten sind darin bemerkbar. Der in Abb. 18 bei stärkerer Vergrößerung gezeichnete Ventrikel ist hier nur tangential geschnitten; seine Beziehung zum Zentralnervensystem ist jedoch von ganz besonderer Bedeutung. Statt der fehlenden rechten Hälfte vom Mesencephalon und Diencephalon ist Ventrikelgewebe des Herzens zur Begrenzung der Hirnkammer verwendet worden. Ja, es bestand sogar an zirkumskripter Stelle eine direkte Kommunikation zwischen Herz- und Hirnhöhle. Infolgedessen pumpte das Herz einen Teil seines Blutes in Hirnventrikel und Zentralkanal hinein. In der folgenden Abb. 25, die einen weiter hinten in Höhe des Labyrinthorganes geführten Schnitt darstellt, finden wir im IV. Ventrikel sogleich die Erythrocyten wieder, der Zentralkanal endlich ist ganz damit vollgestopft. Am unteren Rande des Lebergewebes ist ein kleines Lumen, der Ductus choledochus, leicht zu erkennen.

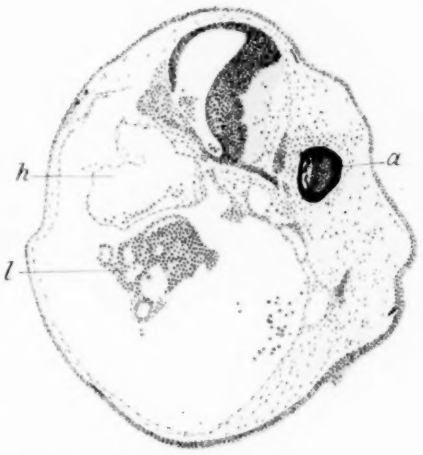


Abb. 24. Querschnitt durch den Kopf einer am 10. Tage nach der Operation fixierten Larve. *h* transplantiertes Herz, *l* transplantierte Leber, *a* Auge. 60 × vergr.

Der in Abb. 25 in der Höhe des Acusticusganglions dargestellte Schnitt ergibt, was die dorsale Hälfte des Kopfes anbelangt, bereits

fast völlig normale histologische Verhältnisse. Am Gehirn ist, von dem Vorkommen der Erythrocyten abgesehen, nichts Atypisches bemerkbar, die Labyrinthorgane sind ohne jede Veränderung, das Acusticusganglion ist beiderseits getroffen, um die Chorda ist die vorderste Anlage der Rückenmuskulatur sichtbar. Ganz erhebliche Veränderungen sind jedoch in der ventralen Kopfpartie bei Bildung der Mundhöhle zu beobachten. Diese ist zunächst völlig asymmetrisch gelagert und von gänzlich veränderter Gestalt. Doch schon in den folgenden Schnitten wird das Lumen auch nach der rechten Seite zu erweitert, von unten her eingeengt und in Höhe der Glossopharyngeusganglien ist die Symmetrie wieder hergestellt. Am Zustandekommen der Mundhöhle sind nun Wirtszellen und Implantat gemeinsam beteiligt.

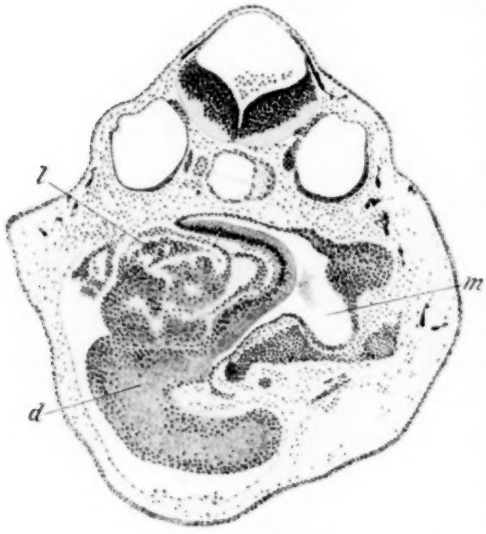


Abb. 25. Querschnitt durch den Kopf einer am 10. Tage nach der Operation fixierten Larve. *l* transplantierte Leberzellen, *d* transplantierte Dotterzellen, *m* Mundhöhle. 60 × vergr.

Es fällt nicht schwer, in der rechten Hälfte des Kopfes sogleich implantierte Dottermasse zu erkennen, deren obere Partie aus Leberzellen besteht. Infolge dieser Zellmasse ist rechts keinerlei Anlage des Hyobranchialskelets zu beobachten, von welchem links einige Teile zu sehen sind. Aus der zylindrischen Stellung der reihenförmig angeordneten Dotterkerne am rechten Rande der Mundhöhle ist zu ersehen, daß die Dottermasse in der Bildung eines Darmepithels begriffen ist. Das Tier hatte keine Mundöffnung entwickeln können, wäre also nicht lange lebensfähig gewesen.

Daß die präsumptiven Darmzellen in ortsfremder Umgebung auch in der Tat typisches Darmepithel bilden, also nicht mehr umwandlungsfähig sind, zeigt der Querschnitt von Abb. 26, der von einer fast drei Wochen alten Larve stammt. Fast zwei Drittel der Mundhöhle wird von hohem Darmepithel eingefaßt, während das linke Drittel von niedrigen Zellen des Wirtstieres umrahmt wird. Ihre Tendenz zur Eigenkrümmung haben jedoch die Darmzellen wohl auch hier nicht ganz verloren. Es hat auf dem dargestellten Querschnitt zwar den Anschein, als würden

sie fast völlig in die Form der Mundhöhle hineingezwungen. Sogar eine gewisse Symmetrie in der Anlage derselben ist unverkennbar. Trotzdem lassen spätere Schnitte aus seltsam geformten Divertikeln und Buchten die Eigenkrümmungstendenz des implantierten Materials noch hervortreten. Erst in der Gegend des Labyrinthbläschens gewinnt die Mundhöhle wieder ihr normales Aussehen in Form und Aufbau. Hier ist aber auch nichts mehr vom Implantat zu entdecken.

Im übrigen fehlt am Kopf von Abb. 26 in der rechten Hälfte das gesamte Zellmaterial des Wirtstieres. Statt dessen finden wir in einem großen Hohlraum dorsal der Mundhöhle die implantierte Leber und Teile des Pankreas; darüber befinden sich zwei Abschnitte des Herzens, die durch ihre pulsatorischen Bewegungen wohl jede Regeneration der rechten Gehirnhälfte in ihrer Umgebung verhindert haben. Durch die helle Ektodermblase hindurch war die Tätigkeit des doppelt an den Kiemenkreislauf angeschlossenen Herzens nebst dem in der Leber vorhandenen Kapillarkreislauf aufs klarste zu beobachten. Die Pulszahl beider Herzen war in der letzten Woche außerordentlich hoch, sie betrug 156 Schläge für das Wirtsherz und 124 Schläge für das implantierte Herz in der Minute.

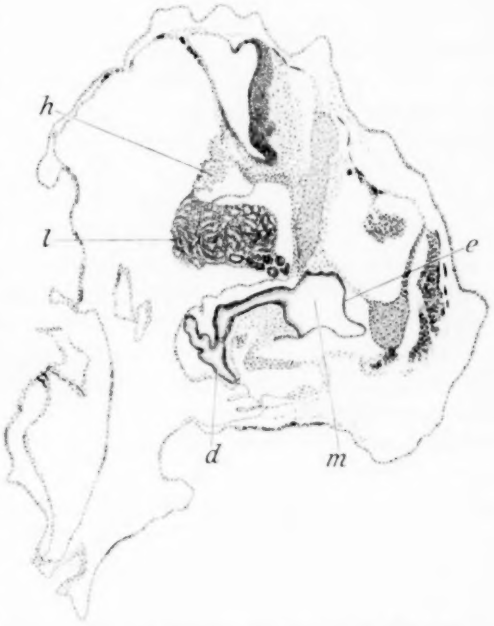


Abb. 26. Querschnitt durch den Kopf einer 3 Wochen nach der Operation fixierten Larve. *h* transplantiertes Herz, *l* transplantierte Leber und Pankreas, *d* transplantiertes Darmepithel, *e* Mundepithel des Wirtstieres, *m* Mundhöhle. 60× vergr.

Das implantierte Herz war wie gewöhnlich von atypischer Form; hatte aber fast die Größe des Wirtsherzens erreicht; der Anschluß an das allgemeine Gefäßsystem ist der Grund hierfür. Vom Skelet ist auf diesem Schnitt ein Teil der Trabekel und des Quadratum vorhanden, der M. masseter und Depressor Cart. hyaloid. et mand. ebenfalls sichtbar. Je weiter wir caudalwärts schneiden, um so mehr Skeletteile treten auf, Schnitte in Höhe des Gehörorgans lassen das ganze Primor-

dialcranium und alle übrigen Organe in typischer Weise hervortreten. Eine weitgehende Unabhängigkeit in der Entwicklung der einzelnen Organe des Kopfes ist sicher vorhanden.

Trotzdem finden wir nach der Herzimplantation am Kopfe die gleiche Folgeerscheinung wie am Rumpf; diejenige Kopfhälfte, auf welche das Herz implantiert wurde, bleibt in der Entwicklung hinter der Gegenseite zurück, eine deutliche Asymmetrie ist die Folge. Das läßt sich vor allem aus Abb. 25 gut erkennen, wenn wir versuchen die Medianlinie durch Gehirn und Chorda zu ziehen und so den Kopf in zwei Hälften zu teilen. Die linke Hälfte ist bei weitem stärker entwickelt. Immerhin ist das Regulationsvermögen des Organismus ein ganz außerordentliches und, wie mir scheint, am Kopf ein wesentlich größeres als am Rumpf.

Diskussion der Ergebnisse.

Zur Untersuchung der Frage: Wann und durch welche Faktoren wird die Entwicklungsbahn des Herzens festgelegt? glaube ich durch vorliegende Arbeit vor allem die Methode gezeigt zu haben, mit welcher wir der Lösung dieses Problems näher treten können. Es hat daher keinen großen Wert, wenn ich hier am Beginne der Untersuchung eine längere theoretische Betrachtung eingehe, die durch weitere Experimente unter Umständen mancherlei Änderung erfahren müßte. Es soll zunächst nur die Frage erörtert werden: Kann sich die Herzanlage durch Selbstdiffenzierung zu einem typischen Herzen entwickeln oder nicht? Exakt wäre diese Frage im Grunde nur damit gelöst, wenn es gelingen sollte in der Kultur eine völlig isolierte Herzanlage zu einem schlagenden, typisch gestalteten Herzen zu züchten.

Gegen diese Möglichkeit sprechen bis jetzt meine Explantationsversuche, mit welchen es mir selbst unter den günstigsten Bedingungen nicht geglückt war auch nur eine einzige normale Form zu erhalten. Gegen die Möglichkeit der Selbstdifferenzierung spricht ferner die schon alte, von mir auch experimentell bewiesene Behauptung, daß wir in dem treibenden Blutstrom einen formbildenden Faktor zu suchen haben. Herzen ohne Blutstrom sind stets atypisch, bleiben in ihrer Entwicklung mit Sicherheit gehemmt und gehen schließlich zugrunde, gleichgültig, ob sie explantiert oder transplantiert waren. Gegen Selbstdifferenzierung spricht ferner die Beobachtung, daß transplantierte Herzen, trotz doppelten Anschlusses an den Blutkreislauf, nicht imstande sind, eine normale Form zu entwickeln. Hierbei vermag die Herzanlage zweifellos eine funktionelle Struktur und Gestalt zu liefern, von einer typischen Formbildung ist aber demnach keine Rede.

Demnach genügt also schon die Verpflanzung der Herzanlage in ortsfremde Umgebung, um eine atypische Form hervorzurufen. Dies

weist mit großer Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß auch in der Umgebung der Herzanlage formbildende Faktoren vorhanden sein müssen. Die Drehungsexperimente der Herzanlage lassen uns einen ähnlichen Schluß, allerdings mit großer Vorsicht, tun. Ein formbildender Faktor für die Herzentwicklung könnte auch in der Leber zu suchen sein. Denn wenn nach *L. Ashers* Untersuchungen die Leber in der Tat einen regulatorischen Einfluß im Sinne einer sympathischen Erregung auf die Herztätigkeit hat, so hat sie damit einen gestaltenden Einfluß auf die Herzform; denn die Herzstruktur, als eine ausgesprochen funktionelle, entsteht nach *Roux* teils vererbt, teils durch funktionelle Anpassung an die mechanische Beanspruchung.

Ist die Herzanlage nun in der Tat ein harmonisch-äquipotentielles System? *Ekmans* Resultat, wonach nach medianer Spaltung der Herzanlage sich zwei fast typisch ausgebildete, schlagende Herzen entwickelten, weist darauf hin; ebenso meine Beobachtung, daß sich in einer einzigen, explantierten Ektodermkugel zwei schlagende Herzen entwickeln können. Doch scheinen diese Experimente beide noch lange nicht beweisend zu sein. Wenn das Herz im Stadium der beginnenden Schwanzknospe in der Tat noch ein äquipotentielles System wäre, müßten bei meinen Explantationen und Transplantationen stets sämtliche Abschnitte, wenn auch in kleinerem Format, ausgebildet sein. Das ist aber nicht der Fall. Unregelmäßigkeit in der Entwicklung der Zahl der Abschnitte bei Herztransplantation ist die Regel, einer oder mehrere Abschnitte fehlen häufig. Diese Beobachtung ist für die Annahme eines äquipotentiellen Systemes entschieden nicht zu verwerten.

Es hat sogar nach dem häufigen Fehlen von Herzabschnitten den Anschein, als bestände eine sehr weitgehende Unabhängigkeit in der Entwicklung der einzelnen Herzabschnitte voneinander. Der leicht erkennbare Ventrikel scheint mit nur einem einzigen Abschnitt zusammen ein lebensfähiges Dasein bis zur Ausbildung des Trabekelsystemes führen zu können. Auch im klappenbildenden Gewebe macht sich eine scheinbar unabhängige Bildungsweise, wenigstens in der Anlage, geltend. Dies würde auf einen mehr mosaikartigen Aufbau der Herzanlage schließen lassen. Doch sind die Dinge zu kompliziert und ist die Zahl der von mir angewendeten Experimente noch zu gering, als daß sich schon jetzt hierüber bestimmte Äußerungen machen ließen. Kommende Untersuchungen werden hier Klarheit zu schaffen haben.

Zur Darmbildung sei folgendes bemerkt: Daß die Epithelzellen des Darmes, schon im Neurulastadium transplantiert, in fremder Umgebung ihre histologische Eigenheit bewahren, wissen wir schon aus *Presslers* Untersuchungen. Wenn daher die erst im Schwanzknospenstadium transplantierten und zur Bildung der Mundhöhle verwendeten Dotterzellen ein typisches Darmepithel enwickeln, so ist das im Grunde

nur eine Bestätigung der Angaben *Presslers*. Die Determination der Dotterzellen in präsumptive Darm-, Leber- und Pankreaszellen erfolgt offenbar schon sehr früh.

Vor der Implantation der Herzanlage ist sicher eine Menge präsumptiven Mitteldarmmateriales entfernt worden. An dessen Stelle wurde zugleich mit der Herzanlage dieser zunächst gelegenes, präsumptives Leber- und Vorderdarmmaterial eingeführt. Demgemäß ist ein Überschuß an präsumptiven Vorderdarmmaterial, eine Minderheit oder gar ein Fehlen von Mitteldarmmaterial bei intaktem oder auch vermindertem Enddarmmaterial vorhanden. Die regulatorische Leistung des Organismus besteht nun darin, diese Zellkomplexe, denen, wie wir aus der Explantation ersehen haben, ein ganz erhebliches Selbstdifferenzierungsvermögen innewohnt, zur Bildung eines einheitlichen Darmes zu zwingen.

Da wir annehmen müssen, daß die zusammengebrachten Zellkomplexe bereits fest determiniert sind, bei der Entwicklung des Darmes also Eigenkrümmungstendenz zeigen werden, so müssen sie sich nunmehr, wenn ein einheitliches Darmstück zustande kommen soll, unter dem Einfluß des Wirtstieres nacheinander gegenseitig orientieren, d. h. von der ihnen zweifellos innewohnenden Tendenz zur Eigenkrümmung mehr oder weniger nachlassen. Hierbei ist wahrscheinlich, daß ein Zellkomplex da, wo er aus sich allein heraus ein Darmstück zu bilden vermag, seine Krümmungstendenz mit einer solchen Stärke einsetzen kann, daß hierdurch die anschließenden, vielleicht nur zur Hälfte aus implantiertem, zur Hälfte aus Wirtsmaterial bestehenden Darmteile in seine Richtung gezogen werden. Begonnene, halbentwickelte Spiralbildungen weisen auf derartige Vorgänge hin. Bei der Vielheit der Möglichkeiten, ein durchgängiges Darmrohr aus dem auf die verschiedenste Weise zusammengesetzten Material zu bilden, ist das Spiel der wirksamen Kräfte selbstverständlich ein ungeheuer mannigfaches und ihre Auswirkung auf die vor unseren Augen entstandene Darmform kaum mehr analysierbar.

In den Lehrbüchern und neuerdings bei *Fahrenholz* findet sich die Angabe, daß die Leberanlage aus der Vorderwand des Darmes hervorsprosse. Das ist sicher richtig, ich glaube aber, es genügt nur zum Teil. Schon *Shore* und *Weysse* haben darauf hingewiesen, daß die Dotterzellen, die in der Umgebung der Leberausbuchtung des Darmes gelegen sind, sich in Leberzellen direkt umwandeln und wahrscheinlich schon im Gastrulastadium zur Bildung von Leberzellen determiniert sind. Nach meinen Beobachtungen vermögen sowohl explantierte, wie transplantierte Dotterzellen Lebergewebe zu bilden, ich kann also die Angaben der beiden Autoren nur bestätigen.

Über das regulatorische Vermögen im Organismus möchte ich noch folgende, kurze Bemerkung machen: Je höher cranialwärts implantiert

wurde, um so leichter erfolgte die Einnivellierung des Implantates, besonders am Kopf selbst. Implantieren wir jedoch weiter hinten, z. B. in der Gegend der Schwanzwurzel, so wird das Implantat nicht mehr in dem Maße in den Kontur des Körpers einbezogen wie weiter vorne, das implantierte Herz kann unter Umständen dauernd wie in einem Bruchsack dem Tiere anhängen (Abb. 4) und behält diese Stellung dann bei. Daraus ist zu schließen, daß die Fähigkeit des Organismus, eine verlorene Symmetrie wieder herzustellen, am Kopf wahrscheinlich größer ist wie hinten und offenbar in cranio-caudaler Richtung abnimmt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es gelingt bei *Bombinator pachypus* und *Rana esculenta* im Stadium der beginnenden Schwanzknospe die Herzanlage an eine beliebige Stelle zu transplantieren und zur Weiterentwicklung zu bringen. Tiere mit zwei schlagenden Herzen wurden bis zur Metamorphose aufgezogen.

Das Transplantat, das neben der Herzanlage auch aus Entomesodermzellen besteht, wölbt sich anfangs bruchsackartig hervor, wird aber allmählich in den Kontur des Wirtstieres einnivelliert. Das Vermögen des Organismus, sich das Implantat einzunivellieren, scheint von vorne nach hinten abzunehmen.

2. Diejenige Körperhälfte, wo sich das implantierte Herz befindet, wird fast immer schwächer entwickelt; die Tiere sind daher asymmetrisch. Bei älteren Larven kann die Asymmetrie teilweise ausgeglichen werden. Die Ursache der Asymmetrie ist in den pulsatorischen Bewegungen des Herzens zu suchen, wodurch alles umgebende Gewebe verdrängt, an Wachstum und Regeneration verhindert wird. Das seitlich implantierte Herz wird in vielen Fällen nach der Mitte hin verlagert, wahrscheinlich durch Zug der Darmschlingen, an die es gewöhnlich fixiert ist.

3. Larven mit implantierter Herzanlage bleiben anfänglich in der Entwicklung hinter gleichaltrigen Kontrolltieren zurück. Die Differenz kann nach einigen Wochen ausgeglichen werden.

4. Zwei Herzen in einem Organismus behalten immer ihren Eigenrhythmus bei; es kommt somit niemals zu einer gleichen Pulszahl auf längere Zeit. Bei Erhöhung der Temperatur nehmen beide Pulszahlen in gleichem Verhältnis zu. Der Puls beider Herzen ist stets regelmäßig; die Pulszahl ist unabhängig von der Größe des Herzens.

5. Das implantierte Herz kann Anschluß an den Blutkreislauf des Wirtstieres erhalten und diesen beeinflussen. Der Anschluß kann ein doppelter, am arteriellen und venösen Teile zugleich sein, er kann aber auch nur einfach sein, so daß das implantierte Herz wie ein Appendix in den Kreislauf eingeschaltet ist.

6. Für Form und Wachstum des embryonalen Herzens ist das Vorhandensein des Blutstromes wahrscheinlich ein wichtiger Faktor.

7. Das implantierte Herz kann dem Wirtsherzen fast alles Blut entziehen und in einen eigenen Kreislauf einbeziehen, so daß das Wirtsherz beinahe leer schlägt.

8. Larven mit zwei Herzen sind heller in der Pigmentierung wie die Kontrolltiere. Die Ursache liegt zum Teil wahrscheinlich in einer Störung des Blutkreislaufes, zum Teil ist sie unbekannt.

9. Die implantierte Herzanlage vermag niemals eine typische Form zu entwickeln. Die implantierten Herzen stehen hinter dem Wirtsherzen gewöhnlich an Größe zurück, vor allem dann, wenn sie keinen Anschluß an den Blutkreislauf erhalten haben. Die einzelnen Herzabschnitte scheinen sich unabhängig voneinander entwickeln zu können.

10. Die mit der Herzanlage gleichzeitig implantierten Entomesodermzellen vermögen im Wirtstier Leber, Pankreas und Gallenblase zu bilden.

11. Das Wirtstier kann aus eigenen und implantierten Dotterzellen einen einheitlichen und durchgängigen Darm herstellen. Der Darmsitus ist stets atypisch.

Literaturverzeichnis.

L. Asher: Klin. Wochenschr. 2. Jg., S. 2285. 1923. — *Benninghoff:* Morphol. Jahrb. **51**, 355. 1922. — Ders.: Verhandl. d. anat. Ges. Heidelberg S. 185. 1923. — *Bernays:* Morphol. Jahrb. **2**. 1876. — *Boas:* Ebenda **7**. 1882. — *Brachet:* Zeitschr. f. d. ges. Anat., Abt. 3: Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. **6**, 739. 1897. — *Chorinshitzky:* Anat. Hefte **13**, 363. 1900. — *B. Erdmann:* Morphol. Jahrb. **51**, 339. 1922. — *Fahrenholz:* Zeitschr. f. d. ges. Anat., Abt. 1: Zeitschr. f. Anat. u. Entwicklungsgesch. **69**, 344. 1923. — *Greil:* Morphol. Jahrb. **31**, 123. 1903. — *Göppert:* Ebenda **17**, 100. 1891. — *Hammar:* Anat. Anz. **13**, 233. 1897. — *Shore:* Journ. of anat. a. physiol. **25**. 1891. — *Stöhr* jr.: Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **102**, 426. 1924. Hier die weitere Literatur. — Ders.: Die Naturwissenschaften **12**, 337. 1924. — Ders.: Verh. d. Phys.-Med. Ges. Würzburg **49**, 34. 1924. — Ders.: Verh. d. Anatom. Ges. Halle 1924. — *Weysse:* Arch. f. mikroskop. Anat. **46**, 632. 1895.

Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens.

Von

Ernst Redenz.

(Aus der anatomischen Anstalt in Würzburg. Direktor Prof. *H. Braus*.)

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Mai 1924.)

Inhaltsübersicht.

Seite

A. Fragestellung und Literatur über die Bedeutung des Nebenhodens . . 593
B. Der Bau des Nebenhodens erscheint als der zweckmäßigste Ausdruck seiner Funktion
I. Morphologische Befunde und physiologisches Verhalten der Spermien im Hoden 595
II. Morphologische Befunde und physiologisches Verhalten der Spermien im Nebenhodenschweif 600
III. Die Sekretionserscheinungen im Ductus epididymidis 612
C. Diskussion, zusammenfassende Versuche und Schlußsätze 618

Diese Arbeit wurde im anatomischen Institut der Universität Würzburg unter ständiger Anregung und Anleitung meines hochverehrten Lehrers Professor *Hermann Braus* ausgeführt. Die Mittel zu der Arbeit erhielt ich durch die Rockefeller-Foundation. Für die umfassende Unterstützung sage ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank.

A. Fragestellung und Literatur über die Bedeutung des Nebenhodens.

Die auffällige Aufknäuelung und große Länge des Nebenhodenganges sind jedem Arzt und Anatomen bekannt. Es sind jedoch bis heute noch keine Tatsachen über den Nebenhoden gefunden worden, die uns dem Verständnis für die eigentümliche Form näher bringen. Nach *Hammar* (10) ist der Nebenhoden eine Drüse, die gleich anderen der so zahlreichen akzessorischen Geschlechtsdrüsen ihr Sekret den Geschlechtsprodukten beimengt. Sie ist aber auch keine einfache Anhangsdrüse, bei der Produktions- und Verwendungsort verschieden sind. Die Eigenart der Nebenhodendrüse muß in der Zwischenschaltung bestehen, die bedingt, daß die Produkte der eigentlichen Geschlechtsdrüse den langen Weg durch den Ductus epididymidis nehmen müssen. Ohne die raumsparende Schlängelung des Nebenhodens würde der Hoden des Menschen 3 m, der des Stieres über 10 m hinter seinem Träger herschleifen. Während der Darm durch seine Schleifenbildung die resorbierende Fläche auf zweckmäßigste Weise vergrößert, wissen wir

für die Aufknäuelung des Ductus epididymidis, der, aus dem *Wolff*schen Körper hervorgehend ursprünglich gerade mit zunehmender Entwicklung den gewundenen Verlauf nimmt, keine Erklärung.

Literatur.

Nach der allgemeinen Ansicht der Autoren erwerben die Spermien bei der Nebenhodenpassage ihre Beweglichkeit. Nach *Hammar* (10) ist das Nebenhodensekret eine Verdünnungsflüssigkeit, die den Spermien die Entfaltung ihrer Bewegungsfähigkeit erst ermöglicht. *Hammar* (10) sowohl wie *van der Stricht* und *Fuchs* (7) kommen nach Abschluß ihrer Untersuchung zu dem Ergebnis, daß dem Nebenhodensekret eine ernährende Funktion zukomme. Durch *Fuchs* (7) sind wir darüber aufgeklärt worden, daß der Wimperschopf der Epithelien im Ductus epididymidis keine aktiven Bewegungen auszuführen vermag, und er sieht im Nebenhodensekret jetzt eine Flüssigkeit, die den Spermien das Gleiten durch den Gang erleichtern und die Reibung an den Wänden vermindern soll. Außerdem muß das Sekret auf Grund chemischer Eigenschaften Garantien für die Bewegung bieten, da die Spermien im Nebenhodenschweif Eigenbewegungen aufweisen. Nach *Tournade* und *Régaud* (25) ist die Beweglichkeit eine Fähigkeit, die die Spermien nach und nach bei der Wanderung durch den Ductus epididymidis erwerben. Weiter hat sich die Chirurgie hauptsächlich mit dieser Frage beschäftigt, weil tuberkulöse und gonorrhoische Erkrankungen des Nebenhodens oft eine Exstirpation erfordern und man sich nicht über die Folgen einer solchen Operation klar war (Literatur bei *Schmidt* (21). So weist z. B. *Frank* (5) eine Anastomose zwischen Nebenhodenkopf und Ductus deferens zurück, weil nach ihm die Spermien im Nebenhodenschweif erst ihre Beweglichkeit bekommen. Dagegen berichten zahlreiche Autoren über bewegliche Spermien nach dieser Operation. Nach einer kurzen Mitteilung von *Cody* (4) auf dem amerikanischen Anatomentag hat dieser ähnliche Ergebnisse, wie meine Arbeit sie bringt; er spricht von einem „protecting film" der umgebenden Flüssigkeit um die Spermien. Die angekündigte Arbeit von *v. Moellendorff* (15) bezieht sich auf Resorptionserscheinungen in den Coni vasculosi, die durch Vitalfärbung sichergestellt werden konnten.

Versuchsbedingungen.

Um die Spermien möglichst sicher entnehmen zu können, untersuchte ich die Hoden der größeren Schlachttiere, Stier, Hammel, Eber, Ziegenbock, die infolge der Nähe des Schlachthauses körperwarm beschafft werden konnten und bei denen kranke Tiere ausgeschieden wurden. Tiere verschiedenen Alters standen jederzeit von März bis Februar fortlaufend zur Verfügung. Die Untersuchung der Spermien geschah auf Glimmerplatten oder auf mit Äther und Alkohol gereinigten und gewässerten Objektträgern. Es wurden nur längere Zeit gewässerte Glasstäbe und Pipetten benutzt. Zur Bestimmung der ($H^{\cdot}$)-Konzentration wurde die Indikatorenmethode von *Sörensen-Michaelis* (23/14) und die von *Felton* (5) angegebenen und von *Fischer* in Kopenhagen mit Erfolg bei Zellkulturen verwandten Indikatoren gebraucht (Bromphenolblau, Methylrot, Bromthymolblau, Bromkresolpurpur, Phenolrot, außerdem Rosolsäure, Kresolrot, Thymolblau, Phenolphthalein, Thymolphthalein, Alizaringelb, Tropäolin 0). Die Kulturen wurden im ausgehöhlten Objektträger im hängenden Tropfen im Brutschrank oder bei Zimmertemperatur gehalten. Die Entnahme geschah nach Bedarf steril. Als Verdünnungsflüssigkeiten wurden benutzt: Ringerlösung, Lewislösung, Tyrodesche Lösung und Reteflüssigkeit des untersuchten Tieres. Die Zählung der Spermien geschah mit

Zählkammer nach Thoma-Zeiß und Leukozytenpipette. Fixiert wurde mit „Susa" (*Heidenhain*) oder Formol, gefärbt nach *Delafield*, *Heidenhain*, Azokarmin — *Mallory* — *Heidenhain*, Fettfärbungen und Lipoidfärbungen nach *Kawamuras* (20) Anleitung und den dort empfohlenen Methoden.

B. Der Bau des Nebenhodens erscheint als der zweckmäßigste Ausdruck seiner Funktion.

1. Morphologische Befunde und physiologisches Verhalten der Spermien im Hoden.

Um etwas über die Funktion des Nebenhodens zu erfahren, suchen wir zuerst nach morphologischen Verschiedenheiten der Spermien im Hoden und der Spermien, die den betreffenden Abschnitt passiert haben, über dessen Funktion wir im Unklaren sind. Nach der allgemeinen Ansicht ist die Entwicklung der Spermien im Hoden vollendet, nur ein stürmischer Nachschub nach stärkster Inanspruchnahme kann eine Ausschwemmung unreifer Elemente zur Folge haben. Das dem Rete testis entnommene Spermium des Stieres besitzt alle dem reifen Spermium eigenen Bestandteile: es besteht aus Kopf mit Kopfkappe, Halsstück, Verbindungsstück und Hauptstück und zeigt das freie Endstück des Achsenfadens, das sogenannte *Retzius*sche Endstück mehr oder weniger deutlich. Da die Untersuchungen am frischen Präparat ausgeführt werden mußten, ist mir über die Bildung der Spiralfaser nichts bekannt geworden. Der von *Goldschmidt* (8) und anderen durch ihre Untersuchungen in vitro erwiesene zwangsläufige Ablauf der Spermiogenese macht es aber wahrscheinlich, daß auch alle feineren Vorgänge am Verbindungsstück zwangsläufige Mechanismen sind, und daß die jeweils im Nebenhoden vorgefundenen Entwicklungsstadien nur Ausdruck einer mehr oder weniger starken Inanspruchnahme des Hodens sind. Ebenso ist wohl ein im Nebenhodenkopf dicht unter dem Kopf des Spermiums das Halsstück und den obersten Teil des Verbindungsstückes umschließender Protoplasmatropfen zu deuten, den schon *Retzius* (11) mehrfach abgebildet hat (Abb. 1*a* und *b*): seine Lage wechselt, er ist im reifen Zustand beim Spermium des Nebenhodenschweifes an das Ende des Verbindungsstückes getreten (Abb. 1*c* und *d*). Durch seine Lage sind die Spermien des Nebenhodenkopfes von den Spermien des Nebenhodenschweifes mit Sicherheit zu unterscheiden. Aus dem vorher Gesagten ergibt sich, daß dies Unterscheidungsmerkmal nicht absolut gilt, da bei stürmischer Regeneration im Hoden Spermien im Nebenhodenschweif erscheinen können, die ihren Protoplasmatropfen noch am oberen Teil des Verbindungsstückes dicht unter dem Kopf zeigen. Die vorherige Kontrolluntersuchung der zum Versuch benutzten Spermien schützte bei den zu beschreibenden Versuchen stets vor Fehlern. Bei den Spermien des Nebenhodenschweifes ist der beschriebene Protoplasmatropfen jedoch an das Ende des Verbindungsstückes gerückt. Er umschließt

das Verbindungsstück des Spermiums und trägt in einer einseitigen Ausbuchtung einen dunklen ovalen Körper und ist außerordentlich leicht abstreifbar. Er fällt bei Schwankungen des osmotischen Druckes, bei Verdünnungen, leicht ab. Fast immer findet sich irgendwo im Ductus epididymidis eine Stelle, wo die Spermien diesen Protoplasmatropfen aus irgendeinem Anlaß nicht mehr besitzen, ihn verbraucht oder abgeworfen haben. Im allgemeinen ist er jedoch überall vorhanden. Das Spermium

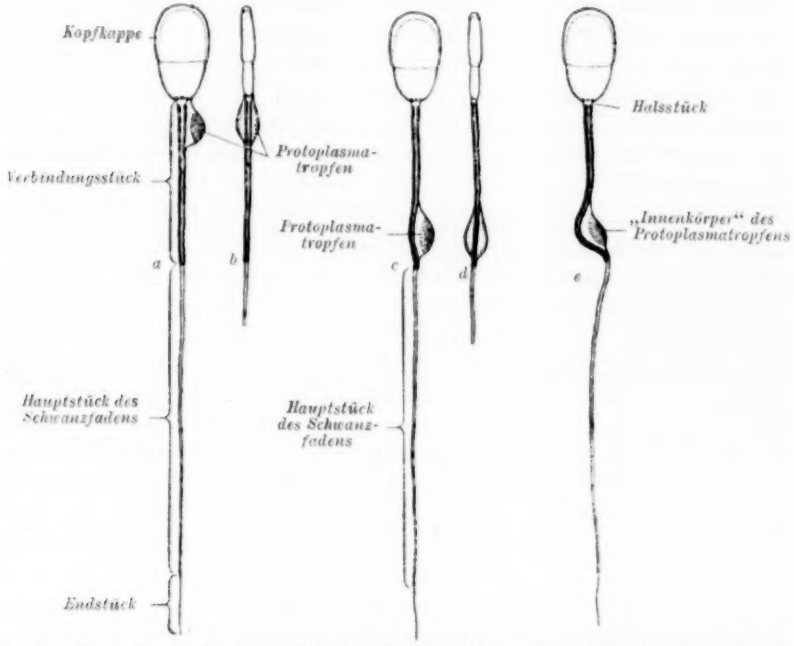


Abb. 1. *a* Spermium des Stieres aus dem Nebenhodenkopf von oben gesehen, schematische Zeichnung. Protoplasmatropfen am oberen Ende des Verbindungsstückes. *b* das gleiche Spermium von der Seite. *c* Spermium des Stieres aus dem Nebenhodenschweif. Protoplasmatropfen am unteren Ende des Verbindungsstückes. *d* das gleiche Spermium von der Seite. *e* der Protoplasmatropfen vom oberen Teil des Verbindungsstückes herabgezogen.

trägt diesen Protoplasmatropfen auch noch nach der normalen Ejakulation, und es ist nicht einzusehen, warum er bei der Wiedergabe von Spermien in den Lehrbüchern meist fehlt. Es mag sein, daß man nichts damit anzufangen wußte. Aus der Lage dieses Tropfens ist sogar zu schließen, daß die Spermien der zweiten oder späteren Ejakulation aus dem Kopf des Nebenhodens stammen. Es bedarf also zur Wanderung des Protoplasmatropfens entlang dem Verbindungsstück einer gewissen Zeit. Die Zeit, die vergeht, bis nach Ausstoßung von nachweislich aus dem Nebenhodenkopf stammenden Spermien wieder Spermien im Ejakulat auf-

treten, die ihren Protoplasmatropfen wieder am Ende des Verbindungsstückes haben, stellt einen als Leistungsprüfung verwertbaren Ausdruck der regenerativen Kraft des Hodens dar. Dies scheint auch für menschliche Ejakulate zu stimmen.

Die vergleichenden Messungen der Spermien aus dem Hoden und der Spermien aus dem Nebenhoden haben keinen Längenunterschied gezeigt. Es lag bei der im Nebenhodenschweif plötzlich auftretenden Bewegung viel näher, an ein Wachstum des Achsenfadens oder an eine andere Veränderung am Lokomotionsorgan überhaupt zu denken. Erst in zweiter Linie war zu untersuchen, ob die Beweglichkeit eine im Hoden latente Eigenschaft ist, die unter dem Einfluß des Nebenhodensekretes im Nebenhodenschweif in Erscheinung tritt. Vor langer Zeit schon hat *v. Brunn* (3) bewiesen, daß der Achsenfaden vor seiner Umhüllung schon seine endgültige Länge besitzt. Das *Retzius*sche Endstück, d. h. das nackte Ende des Achsenfadens, glaube ich bei den Spermien des Nebenhodenschweifes allerdings stets länger und deutlicher gesehen zu haben. Dies könnte auch zu der stärkeren Beweglichkeit der Spermien im Nebenhodenschweif beitragen.

Nach den Versuchen von *Peter* (7) ist das Verbindungsstück Zentrum für die Bewegungserregung. Es lag nahe, die größere Erregbarkeit des Spermiums im Nebenhodenschweif auf die Entfernung des Protoplasmatropfens vom oberen Teil des Verbindungsstückes zurückzuführen. Ich habe durch Verletzungsversuche mittels Glasstaub an Spermien vom Stier die Versuche von *Peter* (7) an Fröschen bestätigen können und fand ebenfalls als Zentrum für die Bewegungserregung das Verbindungsstück. Bei der Wanderung des Protoplasmatropfens entlang dem Achsenfaden wird dieser von der Lamelle entkleidet, in deren Ausbuchtung der als „Innenkörper" beschriebene dunkle ovale Körper liegt. Ich fand des öfteren Spermien, deren Schwanzfaden am Ende des Verbindungsstückes in einem scharfen Bogen um 180° gekrümmt war. Diese Krümmung konnte ich nie in unverdünnten Präparaten auffinden und halte sie für eine der vielen Formveränderungen, die Spermien bei Änderung der osmotischen Verhältnisse annehmen können. In diesem Bogen lag der besprochene Tropfen nebst Innenkörper, der hier besonders sichtbar wird. Von der Stelle am proximalen Ende des Verbindungsstückes, wo früher der Tropfen saß, spannt sich jetzt zu dem kopfwärts gebogenen Hauptstück eine feine Lamelle, die nach kranial konkav erscheint und durch das Auseinanderfließen des Tropfens bei der Berührung des Tropfens durch das umgebogene Hauptstück entstanden ist. Bei der nun langsam erfolgenden Streckung des Schwanzfadens wird die Protoplasmalamelle vom oberen Teil des Verbindungsstückes herabgezogen (Abb. 1*e*). Die physiologischen Untersuchungen werden aber zeigen, daß die Be-

freiung des oberen Teiles des Verbindungsstückes vom Protoplasmatropfen für die in Erscheinung tretende Beweglichkeit der Spermien im Nebenhodenschweif nicht verantwortlich zu machen ist. Die Verletzungsversuche zeigten ebenfalls, daß der Protoplasmatropfen für die Bewegung an sich nicht notwendig ist. Ob er für deren Dauer von Bedeutung ist, konnte ich nicht ausschließen. Die Spermien ohne Protoplasmatropfen in Kulturen überlebend erhalten, zeigten eine kürzere Bewegungsdauer als Spermien mit Protoplasmatropfen. Da der Tropfen aber bei osmotischen Schwankungen verloren geht und eine solche Schwankung eine Schädigung des Spermiums selbst bedeuten kann, ist der Schluß nicht ohne weiteres zulässig, daß dieser Protoplasmatropfen Garantien für eine längere Bewegungsdauer bietet, also etwa einen Nahrungsstoff darstellt. Die beschriebene Wanderung des Protoplasmatropfens entlang dem Verbindungsstück ist der einzige Unterschied zwischen den Spermien des Hodens und den Spermien aus dem Nebenhodenschweif. Sie ist bei der Beurteilung der physiologischen Ergebnisse zu beachten, weil sie eine Veränderung am Lokomotionsorgan darstellt und dem Nebenhoden ein Einfluß auf die Beweglichkeit zugeschrieben wird.

Bei den folgenden Versuchen ließ ich mich von der Vorstellung leiten, daß die Beweglichkeit nicht erst eine im Nebenhoden erworbene Eigenschaft sein kann, wenn es gelingt, im Hoden selbst Bewegungen auszulösen. Auf Grund der von *Hirokawa* (11) festgestellten belebenden Wirkung des Prostatasekretes und seiner Alkaleszenz auf Nebenhodenspermien arbeitete ich unter der Annahme, daß die Alkaleszenz eine der Grundbedingungen für die Bewegungsauslösung überhaupt darstelle. Ich versuchte durch Zusätze von NaOH, $NaHCO_3$ und Na_3PO_4 und Pufferlösungen unter ständiger Kontrolle der Änderung der (H^+)-Konzentration vermittelst Pufferlösungen und Anwendung der Indikatoren die dem Hoden entnommenen Spermien zu Bewegungen zu veranlassen. Dies gelang, nachdem durch einige Übung die Dosierung herausgefunden war. Es wurde teils Dextrose zugesetzt und möglichst auf eine Beimengung von Gewebssaft Wert gelegt. Derartig behandelte Zupfpräparate vom Hoden des Stieres, des Hammels, des Ziegenbocks, vom Meerschweinchen, von der Maus und auch vom Hahn zeigten nach Behandlung mit alkalischer Ringerlösung lebhafte Bewegung. Das Ergebnis dieser rein orientierenden Untersuchung fällt mit dem Befund zusammen, daß an manchen Stellen der Schnittfläche eines Stierhodens, der vor einigen Minuten durch einen Querschnitt eröffnet worden war, Spermien in lebhaftester Bewegung gefunden werden können. *Rehfisch* (20) hat 1898 in seiner Arbeit über die Samenblasen einmal von beweglichen Spermien im Hoden berichtet, ohne weiter Wert darauf zu legen. Es kommt also dem Nebenhoden die ihm zugeschriebene Eigenschaft,

den Spermien die Beweglichkeit zu erteilen, nicht ohne Einschränkung zu. Wir müssen annehmen, daß die Beweglichkeit dem auswachsenden Achsenfaden an sich eigen ist, und wir sind gezwungen, die näheren Bedingungen der künstlichen Bewegungsauslösung zu studieren. Die in diesen Versuchen gefundenen optimalen Bedingungen für eine Bewegungsauslösung an Spermien aus dem Hoden müssen den im Nebenhodenschweif gegebenen aufs Nächste verwandt sein, und sie ermöglichen eine Erklärung für die hier im Schweif des Nebenhodens spontan auftretende Bewegung.

Der durch den Hoden geführte Querschnitt setzt die Spermien des Hodengewebes unter völlig veränderte Lebensbedingungen. Die eingreifendste Änderung ist die Eröffnung der Blut- und Lymphgefäße und die Vermengung des Inhaltes der Hodenkanälchen mit Gewebsflüssigkeit. Dazu tritt der jetzt direkt mögliche Gasaustausch mit der Atmosphäre, dem die Spermien und die vorher vom Gewebe eingeschlossenen Flüssigkeiten jetzt unterworfen sind. Die mit dem Indikatorenverfahren ermittelte ($H^{\cdot}$)-Konzentration ergab für Gewebsflüssigkeit des Hodens stets Werte um den Neutralpunkt. Die durch Punktion gewonnene Flüssigkeit aus dem Rete testis, bei der die Abwesenheit von Blut durch das völlige Fehlen von Blutkörperchen sichergestellt wurde, zeigte eine schwach alkalische Reaktion, p_H etwa 7,5 und schwache Bewegungen der darin enthaltenen Spermien. Wurde die ($H^{\cdot}$)-Konzentration durch Zusatz von NaOH oder Puffer bis $p_H = 8—8{,}5$ geändert, so wurde die Bewegung äußerst lebhaft und ließ sich in einem Grade steigern, der der im Nebenhodenschweifsekret bei geringer Verdünnung beobachteten Bewegung an Intensität nicht nachsteht. Ein $p_H = 12$ beantwortet das Spermium meist mit einer äußerst heftigen Kontraktion des Schwanzes, bei der der Kopf abbricht und jede Bewegung erlischt. Diese Beobachtungen sind bei Zimmertemperatur gemacht. Die Körpertemperatur scheint die Bewegung zu steigern. In einer Feuchtkammer in den Brutschrank gebrachte schwachbewegliche Spermien aus dem Rete testis steigerten ihre Bewegung schätzungsweise in dem Maß, wie sie bei einem $p_H = 8$ künstlich hervorgerufen werden kann. Unter den gleichen Bedingungen unbewegliche Spermien begannen bei erreichter Körpertemperatur die Bewegung. Die Versuche *Stiglers* (25) über die Wärmestarre der Spermien zeigten den anregenden Einfluß der Wärme, und ich glaube, daß man als selbstverständlich annehmen kann, daß die Körpertemperatur des Stieres auch die optimale für die Beweglichkeit seiner Spermien ist. Die von *Stigler* (25) gefundene größere Wärmewiderstandsfähigkeit nach Nebenhodenpassage mag durch meine Untersuchungen als eine Eigenschaft der Sekrethülle gedeutet werden, welche die Spermien, wie ich ausführen werde, im Nebenhoden erwerben. Welche Bedeutung es aber für den Organis-

mus hat, daß die von ihm erzeugten Spermien gegen Temperaturen über seine Körperwärme hinaus widerstandsfähig werden, ist mir unklar geblieben.

II. Morphologische Befunde und physiologisches Verhalten der Spermien im Nebenhodenschweif.

Die Spermien des Nebenhodenkopfes zeigen in ihrem physiologischen Verhalten keinerlei Verschiedenheiten von den Spermien des Rete testis. Die von den Voruntersuchern stets angewandte Verdünnung des Sekretes bei der Untersuchung der Spermien aus dem Nebenhodenschweif mit physiologischer Kochsalzlösung bedeutet ein Herauswaschen der Spermien aus der Samenflüssigkeit und eine Änderung des kolloidalen Zustandes von Spermien und Sekret und damit eine Veränderung der Lebensbedingungen, über die man etwas auszusagen wünscht. Ich habe eine Verdünnung meist vermieden oder mit Paralleluntersuchungen verbunden. Die dem Nebenhodenschweif des erwachsenen Stieres entnommenen Spermien sind bei manchen Tieren ohne Bewegung. Diese setzt erst unter dem Mikroskop langsam ein und bleibt auch manchmal völlig aus. Durch Zusatz geringer Mengen einer neutralen Ringerlösung wird die Bewegung bei allen Tieren schlagartig entfacht. Andererseits findet sich auch ein Nebenhodensekret, das etwas dünnflüssiger erscheint. Hier ist bei schnellster Untersuchung auch ohne Verdünnung sofort lebhafteste Bewegung zu beobachten, und man muß annehmen, daß die Spermien sich schon im Ductus epididymidis bewegt haben, wenn auch vielleicht durch die Eröffnung des Kanälchens eine Steigerung der Bewegung eingetreten ist. Da jede Verdünnung bei allen Tieren sofort die Bewegung entfacht, mußte eine Verdünnung durch Blut oder Gewebssaft der Kanälchenwand bei der Entnahme ausgeschlossen werden, die eine Bewegung innerhalb der Kanälchen vortäuschen könnte. Die Entnahme geschah mit einer Glaspipette (Abb. 2 *a* und *b*), in die eine andere feinere Pipette eingesteckt war, und deren Spitze erst nach Einführung in den Nebenhodengang durch leichten Druck abgebrochen wurde (Abb. 2 *c*, *d*, *e*). Auch bei Anwendung dieser Methodik zeigten sich Fälle, bei denen die Spermien in lebhafter Bewegung waren. Eine Verdünnung durch Blut oder Gewebsflüssigkeit war ausgeschlossen. Die Spermien müssen also innerhalb des Kanälchens ihre Bewegung zur Zeit der Entnahme ausgeübt haben. Um das mit Sicherheit behaupten zu können, müßten wir die Spermien bei noch nicht eröffnetem Kanälchen auf Bewegung untersuchen können. Es ist mir nicht gelungen, eine solche Methode zu ersinnen, die erlaubt, Spermien zu untersuchen, bevor sie unter der Einwirkung der Atmosphäre oder eines anderen Gases stehen. Es tritt aber bei dem einen Sekrettropfen langsam anwachsend allmählich die Bewegung unter

dem Mikroskop auf; bei dem des anderen Tieres hat die Intensität der Bewegung sofort ihren Höhepunkt erreicht. Es fordern daher diese verschiedenen Befunde die Annahme eines wechselnden Funktionszustandes des Nebenhoden. Ich entschloß mich zu der Annahme, daß die Spermien im Nebenhoden unter näher zu untersuchenden Bedingungen ihre Bewegung aufnehmen, die unter anderen Umständen wieder gehemmt werden kann.

Nach den Untersuchungen *Hirokawas* (11) lag es nahe, an ein Sekret im Ductus epididymidis zu denken, das wie das Prostatasekret alkalisch reagiert und wie dieses „belebend" wirkt. Das Nebenhodensekret reagiert aber auf Lackmus neutral. Die Indikatoren-

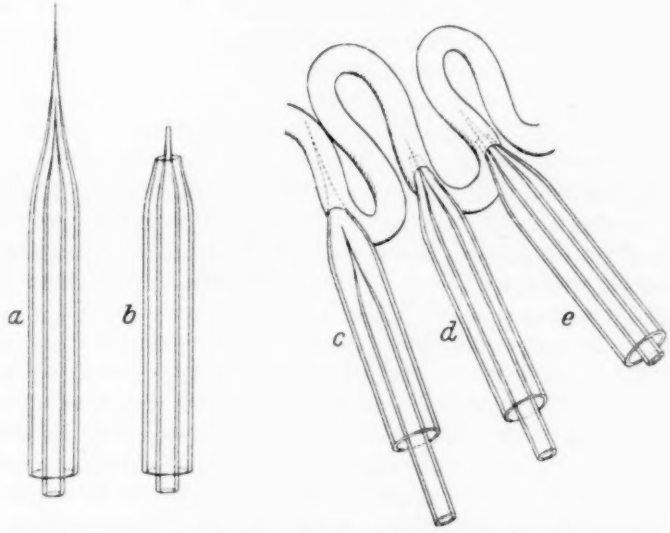


Abb. 2. Ineinandersteckbare Glaspipette. *a* Spitzen intakt *b* Spitzen abgebrochen. *c* erste Pipette in das Lumen eingestochen. *d* Spitze der ersten Pipette abgebrochen, zweite Pipette nachgeschoben. *e* beide Pipetten eröffnet und zur Entnahme bereit im Lumen.

methode, die in diesem Fall wegen der schlecht deutbaren Farbenumschläge und der unbekannten chemischen Zusammensetzung unsicher ist, zeigte Werte von $p_H = 6-7{,}2$, also neutral bis schwach sauer. Die Hemmung der Bewegung scheint auf einer schwachsaueren Reaktion zu beruhen in Verbindung mit dem, mit steigender Kohlensäurespannung zunehmenden Sauerstoffmangel. Dies ist deswegen nicht mit Sicherheit zu entscheiden, weil bei Abschluß der Spermien im Kanälchen eine Kohlensäurespannung bestehen kann, die bei Eröffnung des Kanälchens in kürzester Zeit ihren Ausgleich mit der Atmosphäre findet. Ob nun der Sauerstoffmangel oder die wachsende Kohlensäurespannung zuerst die Bewegung hemmt, ist schwer zu entschei-

den und scheint unwichtig, da der eintretende Sauerstoffmangel und die zunehmende Kohlensäuresättigung des Sekretes voneinander abhängende Prozesse sind, die nach Abschluß der Spermien von der Blutzirkulation oder von der Luft im Versuch selbsttätig ablaufen. Sie finden ihre automatische Regelung. Im gleichen Sinne muß die folgende Beobachtung beurteilt werden. Ein zu einem Tropfen Sekret aus dem Nebenhodenschweif ohne Vermengung hinzugefügter Tropfen einer neutralen Ringerlösung bringt zuerst in der Peripherie des Spermienballens die Spermien zu heftiger Bewegung (auch bei *Régaud* und *Tournade* (36) für die Ratte beschrieben). Die ($H^{\cdot}$)-Konzentration des zugefügten Tropfens Ringerlösung ändert sich bei Beginn der Bewegung nicht, die entweichende Kohlensäure wird von der Ringerlösung gleich an die Luft abgegeben. Es ist stets der gleiche Komplex Ursache der Hemmung und Ursache der Entfaltung der Bewegung. Je nachdem, wie die Größe der beiden beteiligten Komponenten sich gegeneinander verschiebt, ist das Ergebnis Bewegung oder Hemmung der Bewegung.

Wird das bei der Entnahme aus dem Nebenhodenschweif erhaltene Sekret in eine kleine Objektträgerkammer gebracht und augenblicklich luftdicht abgeschlossen, so tritt bei Spermien, die im Nebenhodenschweif in Bewegung waren, nach wenigen Minuten völliger Stillstand ein. Bleibt der Abschluß länger als etwa zwei Stunden erhalten (abhängig von der Dichte der Spermien, von der Dick- oder Dünnflüssigkeit des Sekretes), so sind die Spermien nicht wieder zu beleben. Waren die Spermien zur Zeit der Entnahme unbewegt, so bleibt in der Kammer ebenfalls die Bewegung aus, obwohl eine flach ausgestrichene Kontrolle an der Luft nach wenigen Minuten und eine verdünnte Kontrolle sofort lebhafte Bewegung zeigt. Bleibt eine sandkorngroße Luftblase unter der übergeschobenen Glimmerplatte, so ist an der Oberfläche der Blase die Bewegung intensiv und bleibt hier in nächster Nähe des Luftraumes allein erhalten. Sie kommt nach einer bestimmten Zeit, die von der Größe des Luftraumes abhängig ist, zum Stillstand.

Da durch Zählungen in der Zeißschen Zählkammer leicht die Zahl der in die Kammer gebrachten Spermien berechnet werden kann und die Form und Größe der Luftblase als Halbkugel angenommen und berechnet werden darf, läßt sich aus der Zeit, in der der Luftraum einen solchen Gleichgewichtszustand erreicht hat, daß die Bewegung sistiert, die Sauerstoffmenge berechnen, die ein Spermium in der Zeiteinheit im Bewegungszustand braucht.

Bringen wir nun mit Kochsalzlösung oder Ringerlösung verdünnte Sekretproben aus dem Nebenhodenschweif in solche Kammern, so ist die Dauer der ausgelösten Bewegung bei konstanter Kammergröße direkt abhängig von der Verdünnung, falls die Verdünnung nicht so weit ausgedehnt wird, daß sie schädlich an sich wirkt. Verdünnungen

vom $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2, 3fachen der Tropfengröße konnten gewöhnlich angewandt werden. Kammern, die einen freien Luftraum besitzen, ließen durchschnittlich eine Bewegungsdauer von $1^1/_2$ Tagen zu. Begann nach Aufhören der Bewegung und nun erfolgender Eröffnung der Kammer die Bewegung wieder, so war zu schließen, daß die Bewegung durch den Luftabschluß gehemmt worden war, und nicht der normale Ablauf der Bewegung, wie in den Kammern mit dem großen Luftraum, stattgefunden hatte.

Bei der Besprechung der veränderten Lebensbedingungen, denen die Spermien des Hodens nach Eröffnung der Hodenkanälchen und der Gefäße unterworfen sind, habe ich erwähnt, daß auch die Berührung mit der Atmosphäre eine eingreifende Änderung darstellt. Die Wirkung der Berührung mit der atmosphärischen Luft möchte ich an einem einfachen Versuch deutlich machen. Nach den geschilderten Versuchen ist es einleuchtend, daß in den aus dem betäubten Tier herausgeschnittenen Hoden mit dem Aufhören der Blutzirkulation der bisherige intensive Gasaustausch nicht mehr stattfinden kann. Die im Nebenhodenschweif in so ungeheuerer Anzahl angehäuften sauerstoffbedürftigen Organismen stellen bei Aufhören der Durchblutung zuerst die Bewegung ein, falls sie nicht so dicht aufgerückt waren, daß schon vorher eine automatische Hemmung eintrat. Die Bewegung sistiert zuerst, da sie, wie nachgewiesen, zur Entfaltung der Bewegung ein bestimmtes Übermaß von Sauerstoff gebrauchen, als zur Erhaltung des Lebens notwendig ist. Jede Eröffnung des Ductus epididymidis und in steigendem Maße das Ausbreiten, Durchmischen und gar Verdünnen des herausquellenden Tropfens setzt aber die Spermien unter die früheren Bedingungen des normalen Gaswechsels und verbessert ihn noch, so daß die Spermien in dem Maß, wie der frühere Zustand wiederhergestellt wird, ihre Bewegung wieder aufnehmen. Ich habe nun einen Tropfen Sekret aus dem Nebenhodenschweif, der im Nebenhodenkanälchen unbewegt war, in einem ausgehöhlten Objektträger untersucht und mit einem kräftigen Luft- oder Sauerstoffstrom durchlüftet. In wenigen Sekunden zeigten alle Spermien lebhafteste Bewegung. Eine ausgestrichene Kontrolle brauchte die vielfache Zeit, um den gleichen Grad der Erregung zu erreichen. Ein unberührter Tropfen, den ich als Kontrolle beobachtete, zeigte nach der gleichen Zeit erst spärliche Bewegungen in der Peripherie des Spermienballens. Wurde nun über einen hängenden Tropfen des Sekretes, das dem Nebenhodenschweif entnommen war, und der in einer abgeschlossenen Kammer mit Zu- und Ableitung beobachtet wurde, ein Kohlensäurestrom geleitet, so hörte jede Bewegung augenblicklich auf. Dieser Versuch ist verschiedentlich verändert worden und zeigte auch bei Spermien, die mit *Lewis*-Lösung $p_H = 7{,}5-8$ zu lebhaften Bewegungen

veranlaßt wurden, Indikatorumschlag und Aufhören der Bewegung. Wurde die Kohlensäurezuleitung unterbrochen und Luft zugeleitet, so trat Farbenumschlag ein, d. h. also ein Anzeichen für die Wiederherstellung der neutralen oder alkalischen Reaktion. Bei Proben ohne Indikator trat nach Durchlüftung wieder Bewegung auf (der alkoholische Indikator fällt Eiweiß und zerstört die Spermien; daher muß man zwei Glaskammern hintereinander kuppeln, eine mit dem Indikator versehen und in der anderen den Wiederbeginn der Bewegung beobachten). Wurden die Spermien unter Kohlensäureabschluß gehalten, so trat schnell eine Minderung der Erregbarkeit und nach einiger Zeit der Tod ein, der auch durch Alkali nicht zu beheben war. Wird nur kurze Zeit Kohlensäure durchgeleitet, so ist der Vorgang mehrmals reversibel. Dazu ist zu bemerken, daß durch Überleitung eines Gases über eine Flüssigkeit alle anderen Gase daraus entfernt werden. Es tritt also Sauerstoffentzug ein; ebenfalls muß die narkotische Wirkung der Kohlensäure in Betracht gezogen werden. Der endgültige Tod ist sicher so zu erklären. Da jedoch der Vorgang reversibel ist und bei verdünntem Sekret der Umschlag des Indikators und im Parallelversuch das Aufhören der Bewegung Hand in Hand geht, schließe ich, daß anfangs Kohlensäurenarkose die Bewegung hindert: dies ist der reversible Vorgang. Er ist bedingt durch die geringe Nachgiebigkeit und die Pufferungsfähigkeit des Sekretes, die die ($H^{\cdot}$)-Konzentration um das Spermium — also in der Sekrethülle — zu einer bewegungshemmenden, aber nicht zu einer tödlichen ($H^{\cdot}$)-Konzentration ansteigen läßt. Bei längerer Dauer wird, wie wir sehen werden, schließlich die Sekrethülle zerstört. Wenn bei Verdünnung mit neutralen Lösungen nach einer kürzere Zeit durchgeführten Kohlensäureüberleitung keine Bewegung mehr auftrat, ließ sich durch Alkalizusatz, bei $p_H = 8$, Bewegung erzeugen. Dies bedeutet ein Zurückgreifen auf den Erregungszustand, den die Spermien vor der Nebenhodenpassage besitzen, und einen Beweis für die dem einzelnen Spermium durch die anhaftende Sekrethülle erteilten feineren Eigenschaften. So läßt sich auch in gleicher Weise bei Spermien, die erst nach einigen Stunden aus dem Nebenhodenschweif entnommen wurden, durch Durchlüftung, die die Kohlensäure sicher austreiben würde, keine Bewegung auslösen. Wird mit NaOH ein $p_H = 8{,}5$ hergestellt, sehen wir an dieser auch den Hodenspermien eigenen Erregungsschwelle die Bewegung wieder auftreten. Es macht den Eindruck als sei die Erregungsschwelle durch den längeren Aufenthalt der Spermien im abgestorbenen Nebenhoden, bevor sie zur Untersuchung kamen, wieder um den Grad gestiegen, um den sich eben die Spermien nach der Nebenhodenpassage von den Hodenspermien unterscheiden. Spermien aus dem Nebenhodenschweif, die, mit neutraler Ringerlösung verdünnt, sich lebhaft bewegten, stell-

ten bei fortdauernder Verdünnung bei beibehaltener Reaktion in kürzester Zeit jede Bewegung ein. Durch Zusatz von Alkali konnte bei $p_H = 8-8{,}5$ wieder lebhafte Bewegung hervorgerufen werden. Das Ergebnis bei der Untersuchung von länger im Nebenhoden verbliebenen Spermien und von Spermien, die durch fortdauernde Verdünnung aus ihrem Sekret ausgewaschen wurden, ist also das Gleiche.

Es scheint mir erwiesen, daß die Spermien unter anäroben Bedingungen ihre Bewegung nicht aufrecht erhalten können. Es bleibt jedoch diese einzige für uns deutliche Äußerung ihres Lebens, latent und jederzeit auslösbar über längere Zeit erhalten. Die eintretende Säuerung und der Aufenthalt in der Säure vernichtet schließlich aber auch die Beweglichkeit, so daß nach einer gewissen Zeit auch die Behebung der Säuerung durch Alkali und ein Überschuß an Alkali an diesem Zustand nichts mehr ändert. Die in vitro angestellten Versuche und ihre Ergebnisse sind nun ein getreues Abbild der Befunde, die bei Untersuchungen in bestimmten Zeitintervallen jeweils an dem Nebenhodenschweif des getöteten Stieres erhoben werden können. Ich habe immer eine Serie von Sekrettropfen in Objektträgerkammern zu Beginn des Versuches angesetzt und nach Ablauf der festgesetzten Zeit den entsprechenden in vitro gehaltenen Sekrettropfen mit einem jetzt erst aus dem Kanälchen entnommenen Tropfen verglichen. Es finden sich die folgenden Stadien im Kammerversuch und im gleichen Zeitintervall im unberührt und undurchblutet liegen gebliebenen Nebenhoden wieder:

	In vitro gehalten:	Dem Kanälchen entnommen:	
0^h	+ spontan, ohne Zusatz	+ spontan, ohne Zusatz	1
1^h	0 ohne Zusatz + mit Ringer verdünnt	0 ohne Zusatz + mit Ringer verdünnt	2
3^h	0 mit Ringer verdünnt + mit alkalischer Ringerlösung	0 mit Ringer verdünnt + mit alkalischer Ringerlösung	3
6^h	0 mit alkalischer Ringerlösung	0 mit alkalischer Ringerlösung	4
	+ = Bewegung	0 = keine Bewegung	

Zu Beginn des Versuches: 1. Spontan auftretende Bewegung. Nach einer Stunde: 2. Aufhören der spontan auftretenden Bewegung. Bewegungserregung durch neutrale Ringerlösung. Nach drei Stunden: 3. die Bewegungserregung gelingt nicht mehr mit neutraler Ringerlösung, jedoch noch mit alkalischer Ringerlösung oder Pufferlösung. Nach sechs Stunden: 4. keine Belebung durch Neutralisation und Alkaliüberschuß.

Des öfteren fand sich bei noch körperwarmem Stierhoden sofort das dritte Stadium der Tabelle, d. h. die für den Nebenhodenschweif charakteristische spontane Beweglichkeit war aufgehoben trotz geringer Dichte.

Vielleicht ist die Ursache in einer kolloidalen Zustandsänderung des Sekretes zu suchen. Beim Ziegenbock und Hammel muß das Sekret ganz besonders widerstandsfähig sein oder die Spermien eine besondere Vitalität besitzen. Die Spermien im Nebenhodenschweif sind bei diesen Tieren nur selten in ihrer Bewegung gehemmt. Eine Erklärung hierfür gibt die absolute im Nebenhodenschweif pro cbmm enthaltene Spermienmenge, die bei diesen Tieren geringer ist als beim Stier, was mit der Häufigkeit des ausgeübten Deckgeschäftes in Zusammenhang stehen mag.

Wir haben nun die Bedingungen kennen gelernt, die das Spermium im Nebenhodenschweif genießt, und es gilt die Probe auf unsere Vermutung, daß wir im Nebenhodensekret ein optimales Milieu vor uns haben. Wenn das der Fall ist, müssen die Spermien aus dem Rete testis optimale Bewegung zeigen, wenn sie in unverdünntes Nebenhodenschweifsekret gebracht werden. Durch die Kenntnis von der fast für den Nebenhodenkopf spezifischen Lage des Protoplasmatropfens am oberen Teil des Verbindungsstückes, können wir Spermien aus dem Rete testis, die in Sekret des Nebenhodenschweifes verbracht worden sind, wiedererkennen. Wenn vorher durch mehrere Untersuchungen des verwandten Tropfens aus dem Schweif des Nebenhodens die Abwesenheit solcher wie Retespermien gebauter Spermien nachgewiesen ist, so erlaubt die plötzliche Anhäufung von Retespermien mitten unter den Nebenhodenschweifspermien den sicheren Schluß, daß es tatsächlich hinzugefügte Retespermien sind. Diese untermengten Retespermien zeigen nun aber keine derartige Beweglichkeit! Sie liegen mit trägen, schwachen Bewegungen im Präparat, die übrigen Spermien in intensiver Bewegung. Auch die nach einigem Verweilen der Retespermien im Nebenhodenschweifsekret erfolgte Verdünnung durch Reteflüssigkeit oder durch Zusatz von *Ringer*-Lösung läßt einen krassen Unterschied in der Bewegungsintensität erkennen. Nach dieser Beobachtung können wir es eigentlich nicht mit einem optimalen Milieu zu tun haben. Die folgende Beobachtung verschafft uns völlige Aufklärung: ich fand im Nebenhodenschweif Spermien vom Bau der gewöhnlichen Retespermien. Diese standen den Nebenhodenschweifspermien in ihrer Beweglichkeit in keiner Weise nach und waren auf Verdünnung mit Ringerlösung ohne Alkalizusatz ebenfalls beweglich. Daraus geht hervor, daß es auf die Passage des Nebenhodenganges ankommt, und daß die intensive Berührung und Umhüllung des hier abgesonderten Sekretes notwendig ist, um den Nebenhodenschweifspermien die sie auszeichnenden Eigenschaften mitzuteilen. Der lange Gang mit seiner außerordentlich großen Oberfläche und den ständig an seinen Wänden entlang streifenden Spermien ist eine wunderbare Einrichtung, die die Umhüllung auch jedes einzelnen Spermium auf das vollkommenste gewährleistet. Ich konnte nun zeigen, daß die

Spermien aus dem Rete testis bei einer ($H^{\cdot}$)-Konzentration von $p_H = 8$ so lebhafte Bewegungen ausführen, wie Nebenhodenschweifspermien in neutraler Ringerlösung, die den Sekretmantel besitzen; Retespermien in das Sekret des Nebenhodenschweifes gebracht zeigen dagegen keine verstärkte Bewegung. Daraus ist mit Sicherheit zu schließen, daß das Nebenhodenschweifsekret, welches verdünnt wird, seine Reaktion der zugesetzten Verdünnungsflüssigkeit nicht mitteilt, da sonst die Retespermien sich bewegen würden. Ebenso nimmt der Sekretmantel nicht sofort eine sauere Reaktion an, wenn durch Pufferlösungen oder Milchsäurezusatz ein $p_H = 4{,}5-6{,}5$ geschaffen wird. Die Bewegung bleibt erhalten, wird schwächer und hört bei längerem Verweilen auf. Der gegensätzliche Versuch zeigt, daß durch starke Verdünnung schließlich aus dem Sekret gewaschene Spermien nach Alkalizusatz sich bewegen, bei danach hergestellter Sauerreaktion aber auch nicht einen Augenblick mehr ihre Bewegung aufrecht zu erhalten vermögen, was sie vorher deutlich von Retespermien unterschied. In gleicher Weise werden Spermien aus dem Hoden, die in einem sauren Medium verweilen, sofort ihrer Bewegung und ihrer Beweglichkeit beraubt. Bei der Untersuchung und Entnahme der Nebenhodenschweifspermien einige Stunden nach dem Tode zeigte sich, daß die Spermien bei Verdünnung nicht mehr spontan die Bewegung aufnehmen und auch bei Herstellung einer neutralen Reaktion bewegungsunfähig bleiben. Erst bei stärkerer alkalischer Reaktion, d. h. bei einem Zurückgreifen auf das ursprüngliche Erregungsniveau der Retespermien, tritt Bewegung ein, was als „Belebung" bei den Autoren bezeichnet wurde. Hieraus ergibt sich die Existenz der übrigens nicht sichtbaren Hülle[1]). Ihre Eigenschaften werden durch den Aufenthalt in sauren Medien zerstört.

Prüfen wir nun die Spermien, deren Fähigkeit zur Bewegung wir schon im Hoden festgestellt haben und die nicht erst, wie angegeben, im Nebenhoden erworben wird, auf ihre Bewegungsdauer. Ich kann hier nicht auf die zahlreichen Versuche eingehen, die über die Bewegungsdauer von Spermien berichten. Ich möchte nur betonen, daß man alle Daten, die durch Verdünnung mit noch so „physiologischer"

[1]) Nachtrag: Anläßlich des Vortrages dieser Arbeit auf dem Anatomentag in Halle 1924 wurde durch *v. Möllendorff* (16) der berechtigte Einwand erhoben, daß die nach der Passage des Nebenhodenganges in Erscheinung tretenden Eigenschaften auf einer Änderung des kolloidalen Zustandes der Spermien selbst und auf einer Umstimmung ihres Protoplasmas beruhen könnten und nicht ohne weiteres auf eine Sekrethülle bezogen werden dürften. Es liegt aber näher, bei der Unkenntnis, die bis heute über Änderungen des kolloidalen Zustandes der Spermien nach Nebenhodenpassage herrschen (s. auch S. 613), die im Schweif des Nebenhodens in Erscheinung tretenden Eigenschaften dem Nebenhodensekret zuzuschreiben, zumal die beobachtete Sekretion im Nebenhoden doch als Veranlassung dieser Umstimmung anzusehen ist. Die von mir unterdessen begonnene kolloidchemische Bearbeitung wird auf diese Fragen näher eingehen.

Kochsalz- oder Ringerlösung gewonnen worden sind, nicht auf die Lebensdauer der Spermien und auf die Dauer ihrer Fortbewegung im weiblichen Organismus anwenden kann und daß man nicht etwa gar die Zeit, die bis zur Befruchtung vergeht, abzuschätzen vermag. Die Flüssigkeit im Rete testis ist beim Stier und Hammel sehr reichlich. Sie kann durch Punktion entnommen werden. Durch Zusatz von NaOH wurde bei den entnommenen Retespermien lebhafte Bewegung ausgelöst. Das Präparat wurde als hängender Tropfen unter Paraffinabschluß in den Brutschrank verbracht. Gleicherweise, nur ohne Zusatz von Natronlauge, wurden mit Reteflüssigkeit verdünnte Spermien aus dem Nebenhodenschweif behandelt. Zählungen ergeben ungefähr gleiche „Dichte" (Spermienzahl pro cbmm). Die Bewegung hielt in beiden Fällen $1^1/_2$ Tage bei stärkster Intensität an. Die Spermien aus dem Nebenhodenschweif bewegten sich 3—4 Stunden länger, durch Alkalizusatz waren diese Spermien noch weiter zu beleben. Daraus ist zu entnehmen, daß den Spermien nach der Nebenhodenpassage keine nennenswert größere Bewegungsenergie zur Verfügung steht und daß nach Herausnahme aus dem Körper ein Nachschub an Energie nicht mehr stattfindet. Es ist aber folgendes zu bedenken: Die Lebensdauer des Spermium ist abhängig von der Fähigkeit der umgebenden Flüssigkeit, die optimalen Bedingungen aufrecht zu erhalten. Nun tritt das im Versuch beobachtete Spermium gewissermaßen dauernd auf der Stelle, während das im Genitaltraktus der Frau befindliche Spermium, das sich zielstrebend fortbewegt, eben durch den dauernden Ortswechsel seine Stoffwechselschlacken unterwegs an durchwanderte Sekrete und Flüssigkeitsschichten abgeben kann. Es stellen also auch leider diese Resultate relative Werte dar, die nur besagen, daß Retespermien zu gleichen Leistungen wie die Nebenhodenschweifspermien fähig sind, wenn z. B. durch Prostatasekret ihre volle Bewegung ausgelöst wird. Vielleicht können wir die Lebensdauer der Spermien mit unserer heutigen Methodik noch gar nicht erfassen, wenn wir sie nicht als unbegrenzt ansprechen wollen.

Die folgenden Überlegungen zeigen, daß wir die Lebensdauer für in vitro gehaltene Spermien vielleicht begrenzen können, daß aber nach Aufnahme der Spermien durch den weiblichen Organismus gleich günstige Lebensbedingungen bestehen können wie z. B. im Nebenhoden des männlichen Tieres. Die beiden beobachteten Kulturen sind in einer stagnierenden Flüssigkeit aufbewahrt, und ihre Fortbewegung geht unphysiologisch vor sich. Haben die Nebenhodenschweifspermien in vitro schließlich ihre Bewegung eingestellt, so ist die Sekrethülle ihrer optimalen Eigenschaften beraubt. Durch Zusatz von NaOH läßt sich noch einmal für kurze Zeit heftige Bewegung auslösen. Wir haben aber gesehen, daß die Vermehrung der Wasserstoffionen die Bewegung

hemmt und die fortbestehende sauere Reaktion schließlich die Beweglichkeit vernichtet, weil es uns nie gelingt, im Versuch optimale Verhältnisse zu erhalten. Ganz anders aber ist der physiologische Vorgang: Das Spermium umhüllt sich auf seinem Weg durch den langen Ductus epididymidis mit einer ihm anhaftenden Sekrethülle. Im Augenblick der Ejakulation vor die Cervix geworfen, beginnt es seinen Weg durch den Cervikalkanal in den Uterus und schließlich in die Tube. Die Vorwärtsbewegung durch die Sekrete des Genitalkanales erhält die Hülle des Spermium, die, wie wir sahen, nur bei sauerer Reaktion wirkungslos wird, dauernd optimal. In diesem Sinne haben wir die verschiedenartigsten Sekrete, die im Genitalkanal des weiblichen Organismus abgeschieden werden, zu untersuchen.

Hier sei bemerkt, daß die merkwürdige Erscheinung, daß manche Tiere im Herbst begattet und im Frühjahr ohne nochmalige Kohabitation befruchtet werden, durch die Eigenschaften gewisser Sekrete ihre Erklärung finden kann, die ähnlich wie das Nebenhodensekret die Atmung der eingebetteten Spermien auf das geringste zum Leben notwendige Maß zu beschränken vermögen und dabei die Beweglichkeit durch Hemmung der Bewegung erhalten. Es bedarf dann im Frühjahr nur eines verdünnenden Sekretes im Genitalkanal des Weibchens, um die Bewegung zu entfachen. Ebenso ist von vielen Tieren bekannt, daß der zuletzt ausgestoßene Teil des Ejakulats ein erhärtendes „abschließendes" Sekret darstellt. Man hat sich diesen Abschluß bisher als Scheidenverschluß vorgestellt, der das Herausfließen der Samenflüssigkeit aus der Scheide verhindern soll. Ich möchte der Vermutung Raum geben, daß der Abschluß von der Atmosphäre die Spermien im weiblichen Organismus bis zum Follikelsprung unbewegt erhält. Eine mit dem Follikelsprung einhergehende Sekretionsphase, etwa der Cervikaldrüsen, würde die Bewegung sofort entfachen. Die feineren, uns jetzt bekannt gewordenen Lebensbedingungen der Spermien im Schweif des Nebenhodens ermöglichen derartige Vorstellungen.

Es ist daran zu denken, daß auch der alkalische zähe Cervikalschleim ähnliche Bedeutung wie das Sekret des Nebenhodens haben kann, wenn bei mehrmaligen Kohabitationen Nebenhodenkopfspermien zur Ejakulation kommen. Diese sind nicht genügend vom Sekret des Ductus epididymidis umhüllt worden, erhalten aber durch das alkalische Prostatasekret ihre volle Bewegung. Das Einbohren der Spermien in das Cervikalsekret während ihrer Wanderung durch den Cervikalkanal erscheint nun der gleiche Vorgang wie die Nebenhodenpassage, wenn man für die Sekrete gleiche Eigenschaften annimmt.

Im lebenden Nebenhodenschweif erhalten sich die Spermien und ihre Sekrethülle mehrere Monate lang. Zwar ist die Umspülung durch Gefäße, wie im Nebenhodenkanälchen, bei der Wanderung durch den Genitalkanal nicht mehr vorhanden. Dafür tritt das ständige Vorbeipassieren anderer Flüssigkeitsschichten an Stelle der sonst den Gaswechsel regulierenden Gefäße. Damit steht fest, daß die Bewegungsdauer nicht vorauszusehender Steigerungen fähig ist.

Es fragt sich nun, ob sie an sich unbegrenzt ist und durch welche Faktoren sie ihre Begrenzung erfährt. Ich habe an Stierspermien Verletzungsversuche angestellt, die *Peter* (17) bei Froschspermien schon gemacht hat. Ich habe die Methodik etwas verändert und durch Verreiben des Sekretes mit feinstem gewässerten und pulverisierten Glasstaub zwischen zwei Objektträgern tatsächlich alle denkbaren Zerstückelungen des Spermienkörpers bekommen. Das Verbindungsstück allein stellte den Motor für die Bewegung dar; Stücke des Hauptstückes und des Endstückes sind unbeweglich. Auch Teile des Verbindungsstückes sind von sich aus beweglich. Macerationsversuche werden auch über die Beteiligung der Zentralkörper usw. Aufklärung geben können. Diese Verletzungsversuche stellen also fest, daß wir es mit einem Bewegungs*zentrum* zu tun haben. Nicht das Milieu allein, also etwa eine bestimmte Reaktion oder Temperatur, lassen am Geißelfaden Kontraktionen auftreten, sondern diese Kontraktionen sind durch Reize bedingt, die das Zentrum für die Bewegungserregung vom Milieu empfängt und weiterleitet. Von derartigen Zentren wissen wir aber, daß sie unbegrenzt funktionieren, solange ihre Umgebung ihren Lebensbedingungen entspricht. Im gleichen Sinne müssen wir uns vorstellen, daß kein Nachschub an Energie für dieses Zentrum innerhalb des Nebenhodens stattfindet, wohl aber ein Nachschub der bei der Geißelbewegung verbrauchten Stoffe.

III. Die Sekretionserscheinungen im Ductus epididymidis.

Die untersuchten Nebenhoden zeigten als äußeres Merkmal bei Tieren, die ein ungefähr gleiches Alter hatten, einen verschiedenen Füllungszustand. Der Nebenhodenschweif der Tiere war entweder schwach gefüllt und fühlte sich weich an, oder die pralle Füllung des Ductus epididymidis härtete das Organ beträchtlich. Auch der Nebenhodenkopf zeigte bei verschiedenen Tieren wechselnden Füllungszustand. Mit Rücksicht auf die leider unsicheren Angaben über das Zulassen der Stiere zum Deckgeschäft ist nicht mit völliger Sicherheit zu entscheiden, ob der Füllungszustand von der Zeit abhängig ist, die seit der letzten Entleerung vergangen ist. Wenige sichere Fälle, die ich untersuchen konnte, machen das aber wahrscheinlich. Das Lumen des Ductus epididymidis und sein gewöhnlicher Füllungszustand nimmt vom Kopf des Nebenhodens bis zum Ductus deferens ständig zu. Die lichte Weite der Kanälchen ist im Nebenhodenschweif größer und nimmt vom Beginn des Ductus epididymidis an nach den distalen Abschnitten zu. Ob eine kontinuierliche Zunahme besteht oder ob nicht engere und weitere Abschnitte, die vom Füllungs- und vom Kontraktionszustand abhängig sind, miteinander abwechseln, ist schwer zu entscheiden, weil das Verfolgen der Kanälchen durch die Schnitte außer-

ordentlich mühsam ist. Serienschnitte durch das etwa 20 cm lange Organ wären dazu erforderlich. Eine Fältelung des Epithels sah ich meistens in leeren und spärlich gefüllten Lumina. So ist das Lumen des Ductus deferens meist gefaltet und zeigt unregelmäßig verteilten und spärlichen Inhalt. Im histologischen Bild ist neben dem Epithel, das nachher besprochen werden soll, auch die Lagerung der Spermien innerhalb der Kanälchen von Bedeutung. Man wählt zu dieser Beob-

Abb. 3. Bewegungsbild aus dem Nebenhodenschweif vom Stier.

achtung am besten Schnitte von 10—15 μ Dicke. Im Lumen solcher Schnitte durch den Ductus epididymidis aus dem Nebenhodenschweif sind die Spermien in eigentümlichen, ineinander und gegeneinander mannigfaltig verschobenen Schleifenlinien angeordnet, die durch die jeweils mit ihrer Achse in die Richtung der Schleifenlinie eingestellten Spermienköpfe gebildet wird (Abb. 3). Die gleichen Figuren zeigen die Spermienmassen, wenn ein unverdünnter Tropfen frisches Sekret aus dem Nebenhodenschweif auf dem Objektträger untersucht wird.

Die unter unseren Augen einsetzende Bewegung des einzelnen Spermium wirkt sich in der Gesamtgruppierung nun derartig aus, daß die vorher konstanten Bogen und Schleifen dauernd ihre Form verändern. Die Kurven werden weiter und enger und gehen ineinander über, wobei die Schnelligkeit, mit der sich diese Figuren bilden und wieder vergehen, mit der Zunahme und Bewegung des einzelnen Spermium wächst. Wird dieser untersuchte Tropfen nun sehr gründlich verrührt, so sind die Spermien aus ihrer geordneten Lage gebracht und es ist keinerlei Gruppierung mehr zu erkennen. In kurzer Zeit sind aber die gleichen Figuren wieder gebildet und wir beobachten am Präparat den oben beschriebenen Wandel und Wechsel. Wird abermals gründlich verrührt und nun durch geringen Säurezusatz die Bewegung zum Stillstand gebracht, so bilden sich diese Bewegungsfiguren nicht mehr: die Spermien verharren in regellosem Durcheinander. Ich glaube, daß man auf Grund dieses einfachen Versuches schließen kann, daß die Spermien einmal ihre Eigenbewegung ausgeübt haben müssen, um derartige Figuren zu bilden. Man kann also am fixierten Präparat, auch wenn man seinen lebenden Inhalt nicht beobachtet hat, unter gewissen Umständen aus den mikroskopischen Schnitten ersehen, daß die Spermien sich durch Eigenbewegung an die beobachtete Stelle gebracht haben.

Je stärker wir das lebende Versuchspräparat verdünnen, um so weniger zeigen sich die Figuren. Die positiven Bewegungsbilder beweisen also die ausgeübte Eigenbewegung, sind dagegen keine Figuren vorhanden, so spricht das nicht gegen eine ausgeübte Eigenbewegung. Es kann sich auch um eine geringe Menge Spermien gehandelt haben. Denn die deutliche Ausprägung dieser Bewegungsbilder ist auch von der Masse der jeweils im Lumen vorhandenen Spermien und dessen Weite abhängig. Die Bewegungsfiguren erscheinen mir um so sicherer für die einmal ausgeübte Eigenbewegung beweisend, als die Schleifen mit stärkerer Bewegung der einzelnen Spermien engere, auf verschiedenartigste Weise innig ineinander verschobene Spermienzüge darstellen.

Sehen wir die Schnitte durch den fixierten Nebenhoden auf derartige Bilder hin durch, so finden wir im *ganzen* Ductus epididymidis diese Figuren. Im Nebenhodenkopf sind die Figuren einfacher und zeigen größere Bogen. Sie sind jedenfalls nie so innig ineinander verschlungen wie im Ductus deferens und im Nebenhodenschweif, falls hier keine pralle Auffüllung des Nebenhodenganges vorlag. Ist dies jedoch der Fall, so unterscheiden sich die Bewegungsbilder im Nebenhodenschweif nicht von den in den oberen Abschnitten des Nebenhodenganges gefundenen Figuren.

Nachdem uns die Lebensbedingungen der in das Nebenhodensekret eingebetteten Spermien innerhalb des Kanälchens bekannt sind, und wir die durch ihre Aufwanderung in ein weiteres Lumen eingetretene

Hemmung der vollen Beweglichkeit kennen, machen uns diese gleichartigen Bewegungsbilder im Nebenhodenkopf und im Nebenhodenschweif keine Schwierigkeiten. Obwohl die naive Untersuchung des dem Nebenhoden entnommenen Sekretes immer heftige Bewegung in seinem Schweif, spärliche oder gar keine in seinem Kopf feststellen muß, wissen wir, daß die Verhältnisse *innerhalb* des Kanälchens völlig andere sind und daß die Spermien bei praller Füllung des Nebenhodenschweifes innerhalb des Kanälchens nur träge Bewegungen ausführen, aus denen die gleichen Figuren resultieren müssen wie im Nebenhodenkopf.

Es fragt sich nun, ob die Spermien durch die vis a tergo oder durch das Flimmerepithel der Ductuli efferentes vorwärts bewegt, gleiche Figuren zeigen können. Es kommen ähnliche Bewegungsbilder zuweilen auch hier vor. Da aber die Spermien im Rete testis aktiv beweglich gefunden wurden und wir von den gleichen Spermien wissen, daß sie auch tatsächlich die gleiche latente Bewegungsenergie besitzen und somit die Möglichkeit der Fortbewegung ohne Hilfe des Flimmerepithels gegeben ist, halte ich mich für berechtigt, auch diese Bewegungsbilder als Ausdruck der ausgeübten Eigenbewegung zu deuten.

Die Sekretionserscheinungen am Epithel des Nebenhodens sind Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Es ist hauptsächlich der Sekretionsvorgang als solcher und die „Präparation" des Sekretes (*M. Heidenhain* und *F. Werner*, 9) beschrieben worden. Dies hat besonders *M. Heidenhain* (9) in der eben erschienenen Arbeit über den Ductus epididymidis des Menschen getan, so daß ich mich hierüber kurz fassen kann. Die Fragestellung meiner Arbeit weist der histiologischen Untersuchung nur deshalb eine sekundäre Rolle zu, weil der Nebenhoden als sekretorisches Organ schon lange bekannt und von zahlreichen Autoren beschrieben wurde. Die bisherigen Untersuchungen haben uns dem Verständnis der Form des Nebenhodens nicht näher bringen können, weil wir der Aufgabe, die histiochemischen Grundlagen für eine etwaige Veränderung der Spermien nach der Nebenhodenpassage aufzufinden, noch nicht gewachsen sind. Die histiochemischen und kolloidchemischen Grundlagen für die Eigenschaften des Sekretes können erst erforscht werden, nachdem durch die physiologische Beobachtung des Sekretes der Boden bereitet ist. Da die Physiologie des Nebenhodens und der Spermienbewegung noch nicht in dem Maße geklärt ist, als daß sie nicht durch eine anatomische Fragestellung bereichert werden könnte, seien auch Übergriffe in die Grenzgebiete entschuldigt.

Der Übergang der Ductuli efferentes in den Ductus epididymidis ist durch das plötzliche Auftreten eines außerordentlich hohen zweireihigen Zylinderepithels gekennzeichnet, dessen Kerne, besonders beim Stier, an den basalen Pol der Zelle gerückt sind.

Ich fand im Nebenhodenkopf vom Pferd auch in das Epithel des Ductus epididymidis plötzlich ohne Verbindung mit den Ductuli efferentes eingesprengte Epithelien. Sie waren stark pigmenttragend und niedrig, also für die Ductuli efferentes charakteristisch. Diese Beobachtung hat *Hammar* (10) beim Hund beschrieben und abgebildet.

Die Kerne sind lang gestreckt und mit mehreren Kernkörperchen versehen. Die Pars secretoria mit ihrem Wimperschopf zeigt keine Besonderheiten. Auch beim Stier, Hammel und Pferd tritt das Sekret durch diesen Wimperschopf aus, dessen Anordnung innerhalb je eines

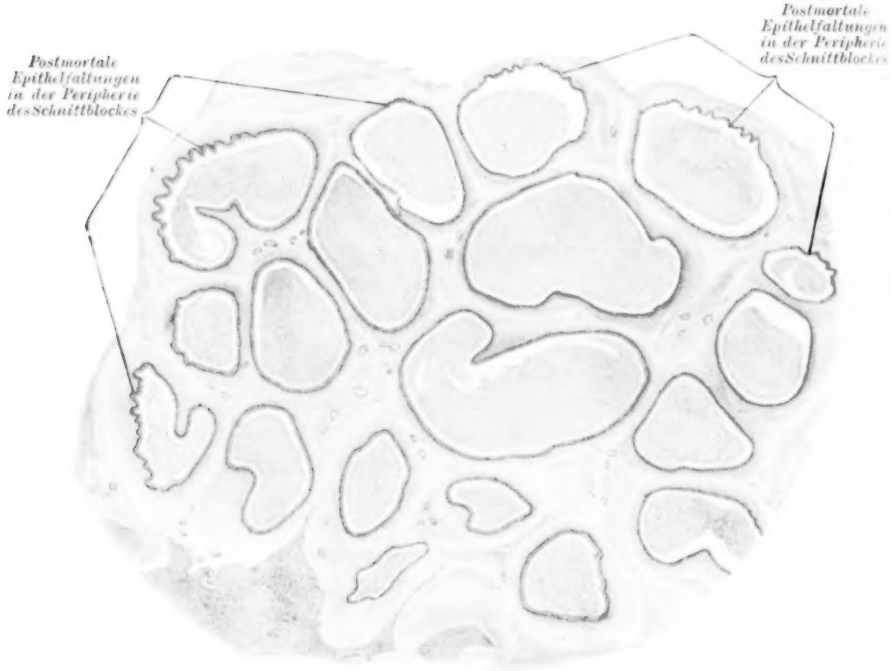


Abb. 4. Übersichtsbild von Abb. 5. Nebenhodenschweif vom Hammel. Die Falten im Epithe nur in der Peripherie des Blockes.

Deckleistenareals deutlich beobachtet werden konnte. Die basalen Zellen sind kubisch, zuweilen platt, tragen einen mehr rundlichen Kern und besitzen spärliches Protoplasma. Die von *M. Heidenhain* (9) beim Menschen und von *Hammar* (1) beim Hund beschriebenen Bilder, aus welchen ein Emporrücken der Zylinderzellen an die Zelloberfläche und ihr Ausscheiden ins Lumen erschlossen wird, konnte ich auch beobachten. Der eigentliche Austritt des Sekretes ist selten wahrzunehmen. Es tritt in kugeligen, hellen Blasen in das Lumen aus. Diese Sekretkugeln findet man aber nur an den Eintrittsstellen der Ductuli efferentes in

den Nebenhodengang und in seinem oberen Teil unzerstört erhalten. Es macht den Eindruck, als sezerniere der Anfangsteil des Nebenhodenganges lebhafter als distalere Abschnitte. Ich glaube aber, daß die bald lebhafter einsetzende Bewegung der Spermien das aus dem Wimperschopf austretende Sekret ständig abstreift, so daß es nicht mehr zur

Abb. 5. Postmortal entstandene Faltungen im Epithel des Nebenhodenschweifes. Ausgepreßte Sekretkugeln über den Falten.

Bildung der Sekretkugeln kommt. Die mechanische Stauung durch den prall gefüllten Nebenhodenschweif hemmt schließlich die Ausstoßung des Sekretes völlig. Im gleichen Sinne ist dann zu deuten, daß im *spärlich* gefüllten Nebenhodenschweif, in dem der Austritt des Sekretes ungehindert stattfinden kann, die beschriebenen Sekretkugeln wieder auftreten. Die Sekretion scheint im Nebenhodenkopf am stärk-

sten und nimmt nach dem Ductus deferens zu ab. Das Epithel verliert wesentlich an Höhe, und die Kerne rücken in die Mitte der Zelle. In einem Präparat vom Nebenhodenschweif des Hammels fand ich Faltungen des Epithels, die offensichtlich post mortem entstanden waren, da den Ausbuchtungen ins Lumen nicht entsprechend leere Bogen in der Spermienmasse gegenüberstanden. Das Übersichtsbild zeigte außerdem, daß die Faltungen im Epithel stets nach der beim Herausschneiden entstandenen künstlichen Außenseite des Blockes lagen (Abb. 4). Über diesen Epithelfalten, deren Wimpern spärlich und durch Sekret verklebt waren, lagen nun in mehreren Lagen zahlreiche große Sekretkugeln von gleicher Art, wie ich sie als Zeichen lebhafter Sekretion im Nebenhodenkopf beschrieb (Abb. 5). Im gleichen Lumen dagegen war die glatte, ungefältelte Epithelleiste nur mit einer schwachen Sekretschicht überlagert. Aus diesen Beobachtungen ist zu ersehen, daß die glatte Muskulatur, die den Ductus epididymidis in einer inneren Ringschicht und dem Ductus deferens zu in Längsfaserzügen netzartig umzieht, und deren Stärke in den distalen Partien ständig wächst, die Möglichkeit besitzt, sich bei der Austreibung des Sekretes zu beteiligen. Da in dem besprochenen Fall das Lumen prall gefüllt war, und nur scheinbar spärliche Sekretion bestand, durch die postmortale Faltung des Epithels aber große Mengen Sekret ausgepreßt wurden, ergibt sich, daß der Sekretionsablauf vom Füllungszustand des Nebenhodenganges und die Form der Abscheidung von der Bewegung der Spermien abhängig ist.

Im Nebenhoden vom Stier fallen die basalen Zellen des Epithels durch die zahlreichen Vakuolen besonders auf, die im gewöhnlichen Hämatoxylinpräparat sich im Plasmaleib der Zelle vorfinden. Diese Vakuolen verschiedenster Größe enthalten ursprünglich mit Sudan rot färbbare, mit Nilblausulfat rot oder ungefärbt bleibende Fettkörper. Der Kern dieser Zellen ist groß und rund, die Zellen selbst von wechselnder Größe. Die fettigen Einschlüsse nehmen entlang dem Nebenhodengang zu und sind am spärlichsten im Beginn des Ductus epididymidis, am zahlreichsten im Ductus deferens des Stieres zu finden. Die Fette sind sicher nicht einheitlicher Natur, da ich zuweilen doppeltbrechende Tropfen beobachten konnte. Im Ductus deferens zeigen die Zellen doppeltbrechende Einschlüsse, die in dichter Lage auch im nichtfixierten frischen Gefrierschnitt zu finden sind. Diese Einschlüsse befinden sich aber in nichttropfigem Zustand, so daß hier auf Cholestearinester wohl nicht zu schließen ist. Nach der bisherigen Literatur sollen Cholestearinester beim Stier überhaupt nicht vorkommen. Auch Nebenhoden von Tieren, deren Spermatogenese noch nicht eingesetzt hat, zeigen, wenn auch nur in Spuren, diese Fettsubstanzen. Diesen Fettgehalt der basalen Zellen im Nebenhodenschweif des Stieres fand ich nun beim Ziegenbock, Hammel und Eber nicht. Auch im Ductus deferens

fehlte hier das Fett. Dafür war aber im Nebenhodenkopf und im oberen Teil des Ductus epididymidis Fett in den Basalzellen vorhanden. Es besteht also kein Zusammenhang zwischen Fettvorkommen und der größeren Weite des Lumens.

Diese Fettspeicherung — ohne damit etwas über den Zweck aussagen zu wollen — findet nur in den basalen Zellen statt. Einen Austritt ins Lumen konnte ich nicht feststellen, doch schließt die zuweilen angetroffene diffuse Gelbfärbung mit Sudan eine Ausscheidung in feinster Verteilung nicht aus. Diese Frage wird durch die Möglichkeit einer etwaigen Fettresorption aus dem Lumen kompliziert. Ich habe nun weiter versucht, an der Hand der *Kawamura*schen Anleitung festzustellen, ob und welche der im Hoden vorkommenden Lipoide sich hier im Nebenhoden wiederfinden. Ich wollte dadurch einen Anhaltspunkt für die von *v. Moellendorff* (16) dem Nebenhoden zugeschriebenen resorptiven Eigenschaften bekommen (die Arbeit ist nocht nicht veröffentlicht, es handelt sich um den sicheren Nachweis von Resorptionserscheinungen in den Coni vasculosi)[1]). Die in den Basalzellen des Nebenhodenepithels sich findenden Fette sind nach den üblichen Reaktionen als einfache Fettkörper anzusprechen. Osmium bräunt primär, schwärzt sekundär; Sudan und Scharlach (*Herxheimer*) färbt tiefrot. Die *Smith*sche Methode färbt das gesamte Epithel des Nebenhodenkopfes schwarz bis schwarzbraun, das Epithel des Nebenhodenschweifes vom Stier hingegen, das den stärksten Fettgehalt der Basalstellen besitzt, überhaupt nicht. Die *Smith*sche Reaktion ist im Anfang des Ductus epididymidis sehr stark. Dies entspricht der diffusen Gelbfärbung mit Sudan, die im Nebenhodenkopf vorhanden ist, im Körper abnimmt und im Nebenhodenschweif fehlt. Die im Hoden des Stieres vorkommenden Lipoide sind nun ausschließlich Cerebroside und Phosphatide (nach *Sorg*, 24) und geben positive *Smith*sche Reaktion. Sämtliche Spermien zeigen in allen Abschnitten Färbbarkeit mit Sudan und auch im Nebenhodenschweif gleichmäßig stark positive *Smith*sche Reaktion. Nach dem Auftreten dieser Reaktion im Epithel des Nebenhodenkopfes — im Epithel des Nebenhodenschweifes ist sie völlig negativ trotz der positiven Reaktion des Kanälcheninhaltes, — halte ich daher die diffuse Gelbfärbung für resorbierte Lipoide, was auch für den Ductus epididymidis den Nachweis von Resorptionserscheinungen bedeuten würde. Nach *v. Moellendorff* (15) schneiden aber die als Resorptionserscheinungen gedeuteten Farbstoffanhäufungen im Nebenhodenkopf scharf mit den Ductuli efferentes ab, was eine Resorption im Ductus epididymidis in Frage stellt.

Woher kommt nun das Fett in den Basalzellen? Der Vergleich vom Nebenhodenschweif eines Stieres und eines Ebers zeigt, daß die

[1]) Unterdessen geschehen: siehe *v. Moellendorff* (16) Diskussionsbemerkung zum Vortrag *v. Lanz* auf dem Anatomenkongreß Halle 1924.

Zunahme der Fettmenge in den Basalzellen beim Stier nicht allein von der Anhäufung der Spermien abhängen kann. Auch die Weite des Lumens schien nicht ausschlaggebend. Beim Eber befindet sich im Nebenhodenschweif ein weit dünnflüssigeres Sekret und ein weiteres Lumen, aber *kein* Fett. Beim Stier ist das Sekret dickflüssig, die absolute Zahl der Spermien im Kubikmillimeter ist größer als beim Eber, und es findet sich im Nebenhodenschweif und im Ductus deferens sehr viel Fett in den Basalzellen. Vielleicht läßt sich das Fett als abgelagerte Stoffwechselschlacken der beim Stier größeren Spermienmenge auffassen. Ich bin zu keiner Lösung in dieser Frage gekommen, da die Ursache der großen Fettanhäufung im Ductus deferens vom Stier ebensogut andere Ursachen haben kann (z. B. der Zerfall der nach einer Ejakulation im Ductus deferens liegen gebliebenen Spermien). Vielleicht spielt das Fett im Nebenhodenschweif auch eine Rolle bei der Bildung des Sekretes, und wir haben bei einem prall gefüllten Nebenhodenschweif des Stieres den Fettreichtum als einen Ausdruck angesammelter Aufbaustoffe des Sekretes aufzufassen, dessen Austritt verhindert wurde.

C. Diskussion, zusammenfassende Versuche.

Die Diskussion der Ergebnisse ist in der Frage zusammenzufassen, wie die Spermien überhaupt den langen Weg durch den Ductus epididymidis zurücklegen. Ich fand in Zupfpräparaten vom Hahn bei Zusatz von NaOH lebhaft bewegliche runde Ballen, deren Wandung anscheinend elastisch durch ein im Innern sich bewegendes Etwas dauernd an den verschiedensten Stellen ausgebuchtet wurde. Dabei wechselte der runde Ballen ständig seine Form und erschien zuweilen lang ausgezogen. Bei genauer Beobachtung zeigte sich im Innern der Kopf eines Spermium und ein feiner Achsenfaden in lebhaftester, schlängelnder Bewegung (es scheint sich beim Hahn der Achsenfaden durch den Kopf des Spermium fortzusetzen, da der langgezogene Kopf deutlich an der Bewegung teilnahm). Hieraus ist zu sehen, daß bereits dem auswachsenden Achsenfaden in der Spermatide die Beweglichkeit eigen ist. Damit haben wir nicht nur zu erörtern, ob die Spermien den Weg durch den Nebenhoden mit eigener Kraft zurücklegen, sondern wir sind auch berechtigt, zu fragen, ob die Spermien sich nicht auch durch Eigenbewegung innerhalb des Hodens selbst in die *Sertoli*schen Zellen einbohren und den Weg durch die Hodenkanälchen zurücklegen. Ich halte das bei bestimmten Funktionszuständen des Hodens (z. B. bei starker Inanspruchnahme) nicht für unmöglich. Ich kann aber im Rahmen dieser Arbeit keine Belege dafür bringen. Die Spermien der Hodenkanälchen haben also bei Stier, Ziegenbock, Maus und Kaninchen die Potenz zur Eigenbewegung. Die Beobachtung der Spermien

aus dem Rete testis zeigte, vor allem wenn Körpertemperatur hergestellt wurde, lebhafte Bewegung. Während mehrerer Operationen am Kaninchen und Hund fand ich äußerst bewegliche Spermien im Nebenhodenkopf. Gegenüber der allgemeinen Ansicht sind die Spermien im Nebenhodenschweif nicht ständig in Bewegung. Ich konnte zeigen, daß hier erst Verdünnung und Luftzutritt die Bewegungen auslöst. Stärkerem Sauerstoffbedürfnis, das vor der Einhüllung in das Sekret und bei der geringeren Weite des Lumens im Nebenhodenkopf nicht besteht, wird der Organismus nun durch stärkere Durchblutung gerecht und wird dabei durch das Sekret als Sauerstoffüberträger unterstützt.

Es ist notwendig, an dieser Stelle die unterschiedlichen Befunde am Nebenhodenkopf und am Nebenhodenschweif gegenüberzustellen, und wir müssen versuchen, uns über die Umstände einer eintretenden Bewegungshemmung klar zu werden. Es sind drei Möglichkeiten, die als Ursache für die Bewegungshemmung in Betracht kommen: 1. Einhüllung durch das Sekret und deren Folge, Erschwerung des Gasaustausches; 2. schlechtere Blutversorgung infolge zunehmender Weite des Lumens und 3. größere Beanspruchung des Gaswechsels durch absolute Vermehrung der Spermien im Kubikmillimeter. Die erste Möglichkeit habe ich nicht ausschließen können. Um den letzten Punkt auszuschalten, habe ich versucht, Zählungen der Spermien im Ductus epididymidis anzustellen. Die Fehlerquellen sind im Nebenhodenschweif unbedeutend, weil das Kanälchen hier verhältnismäßig groß ist, und mit Sicherheit allein aus dem Lumen Sekret entnommen werden kann. Im Nebenhodenkopf ist das fast unmöglich. Bei den geringen Mengen Sekret, die mit einer feinen geeichten Pipette entnommen werden, bedeutet eine Beimengung von Gewebsflüssigkeit zu gleichen Teilen, die meist eintritt und kaum zu vermeiden ist, schon eine Verschiebung des Resultates um die Hälfte seiner Größe. Bei der Betrachtung der trotzdem angestellten Zählungen in der *Thoma-Zeiss*schen Zählkammer zeigte es sich aber, daß die sich aus den Resultaten ergebende Linie, auf ein Koordinatensystem übertragen, nicht immer vom Nebenhodenkopf an abwärts stark anstieg bis zum Nebenhodenschweif, sondern daß es auch Kurven gab mit dem völlig umgekehrten Verlauf. Ich hielt die letzten Resultate, in denen also im Nebenhodenkopf die absolute Zahl der Spermien pro Kubikmillimeter größer war, als im Nebenhodenschweif, für einwandfrei, da die einzige Fehlerquelle die Verdünnung ist. Es konnte also das Ergebnis, daß die Zählung im Nebenhodenschweif noch übertraf, höchstens zu klein sein. Danach kommen also Funktionszustände des Ductus epididymidis vor, wo im Nebenhodenkopf die absolute Zahl der Spermien größer ist, als im Nebenhodenschweif. Dies würde der Vorstellung von der Sekretion und einer Verdünnung viel eher entsprechen. Da die Sekretion sicher nachgewiesen ist, müßte

auch die Spermienzahl pro Kubikmillimeter abnehmen, jedenfalls aber nicht zunehmen. Ich habe nun die absolute Zahl der Spermien bei solchen Nebenhoden geprüft, deren dünnflüssiges Sekret auffiel, und bei welchem die Spermien nach kürzester Zeit unter dem Mikroskop beweglich wurden. Sie lag weit unter der Zahl, die sich bei der Auszählung solcher Sekrettropfen von einem anderen Tier ergab, deren Spermien im Gegensatz dazu erst lange Zeit brauchten, um ihre volle Bewegung zu entfalten. Die bei Hammel und Ziegenbock schon beschriebene größere Vitalität (S. 605) mag an der Dünnflüssigkeit des Sekretes liegen, die sich in einer im Vergleich zu Stierhoden kleineren absoluten Spermienzahl ausdrückt. Wir sehen also, daß der Vergleich der absoluten Spermienzahl pro Kubikmillimeter, die ich *Spermiendichte* nennen möchte, bei verschiedenen Tieren und Tierarten Hemmung der Bewegung zeigt, wenn die Dichte anwächst, Bewegung, wenn sie abnimmt. Vergleichen wir aber die Dichte im Nebenhodenkopf und Nebenhodenschweif desselben Tieres, so sehen wir gleiche oder gar größere Dichte im Nebenhodenkopf. Die Hemmung der Bewegung tritt aber trotzdem durch ein Anwachsen der Spermiendichte ein, da durch den Vorgang der Ejakulation die absolute Spermienzahl pro Kubikmillimeter in den distalen Partien des Ductus epididymidis auf den Nullwert absinkt und an einer distaleren Stelle, die ja durch die aufgenommene Eigenbewegung stets erreicht werden muß, bei hier weiterem Lumen die schließlich eintretende Bewegungshemmung bei einer kleineren Dichte erfolgt.

Die für jede Stelle des Nebenhodenganges verschiedene augenblickliche Atmungsmöglichkeit stellt sich als eine Funktion der Weite des Lumens, des Kontraktionszustandes der Gefäße und der Spermiendichte dar. Ich möchte diese Verhältnisse noch mathematisch formulieren.

Wenn wir

die minimale Atmungsgröße der Spermien für Leben in Ruhe mit a_{min}
die minimale Atmungsgröße der Spermien für Leben in Bewegung, d. i. der Schwellenwert der Bewegungsmöglichkeit, mit . . $a_{\cdot\cdot}$
die augenblickliche Atmungsmöglichkeit mit . . . . . a
die Weite des Lumens mit . . . . . w
den Kontraktionszustand der Gefäße mit . . . . . k
die absolute Spermienzahl pro Kubikmillimeter oder Spermiendichte mit . . . . . d

bezeichnen, dann ist

$$a = f(w, k, d),$$

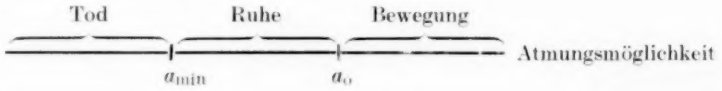
d. h. die augenblickliche Atmungsmöglichkeit ist eine Funktion der Weite des Lumens des Nebenhodenganges, des Kontraktionszustandes der Gefäße und der Spermiendichte.

Ist nun

$$a < a_{min} \ldots \text{Tod}$$
$$a > a_{min} \ldots \text{Leben} \begin{cases} a_0 > a > a_{min} \text{ Ruhe} \\ a > a_0 \text{ Bewegung,} \end{cases}$$

d. h. ist die augenblickliche Atmungsmöglichkeit kleiner wie die minimale Atmungsgröße für Leben in Ruhe, so ist der *Tod* des Spermiums die Folge;

ist die augenblickliche Atmungsmöglichkeit größer wie die minimale Atmungsgröße für Leben in Ruhe, so liegt entweder die augenblickliche Atmungsgröße zwischen dem Minimalwert für Leben und dem Schwellenwert für Bewegung und es besteht *Ruhe*, oder die augenblickliche Atmungsmöglichkeit ist größer wie der Schwellenwert der Bewegungsmöglichkeit (d. h. größer als die minimale Atmungsgröße für Leben in Bewegung), und es besteht *Bewegung*. Das läßt sich graphisch veranschaulichen:



Die augenblickliche Atmungsmöglichkeit ist für die Bewegungsauslösung der Spermien von der gleichen Bedeutung wie die (H^+)-Konzentration. Man kann nicht sagen, daß beide völlig voneinander unabhängig sind, da im lebenden Organismus eine Verschlechterung der Atmungsmöglichkeit mit Anwachsen der CO_2-Spannung einhergeht und damit ein Zusammenhang mit der (H^+)-Konzentration gegeben ist.

Diese erörterten Vorgänge lassen sich an einem anschaulichen Beispiel erläutern. Wenn die Spermien nach Beginn der Spermiogenese ihren Weg durch den Ductus epididymidis zurückgelegt haben und schließlich die absolute Spermienzahl den Schwellenwert erreicht hat, der die Bewegung hemmt, so wird von Abschnitt zu Abschnitt, zeitlich hintereinander folgend, im Ductus epididymidis nach dem Nebenhodenkopf zu ebenfalls dieser Schwellenwert erreicht, bis schließlich im ganzen Gang die Bewegung ruht. Es sei erlaubt, diesen Vorgang mit einem Eisenbahnzug zu vergleichen, dessen Lokomotive plötzlich anhält und nun der nächste und übernächste und alle folgenden Wagen zeitlich hintereinander mit ihren Puffern an den Vorderwagen anstoßen und dann auch stehen. Das Anfahren des Zuges — um im Bilde weiter zu bleiben — und das Anziehen der losen Kuppelung der einzelnen Wagen in zeitlich aufeinander folgenden Abständen und schließlich die Fahrt des ganzen Zuges können verglichen werden mit den Vorgängen nach einer Ausstoßung des Samens: die Folge ist der Beginn der Bewegung in dem freigewordenen distalen Abschnitt, Sinken der absoluten Spermienzahl, Beginn der Sekretion und als beider

Folge ein Aufflammen der Bewegung durch den ganzen Ductus epididymidis. Unter einer solchen Betrachtungsweise kommt uns die Ausdifferenzierung dieses eigenartigen Organes voll zum Bewußtsein. *Wir erkennen, wie die Natur dem Bedürfnis des Organismus gerecht wird, stets bewegungsbereite unbewegte, im Sekret des Nebenhodenschweifes optimal eingebettete Spermien zu besitzen, die dennoch ihre Energie sparen, und wie durch die hohe Organisation dieses Organes die gleiche Energie wieder benutzbar wird, um den Ersatz der ejakulierten Spermien, Vorbereitung*

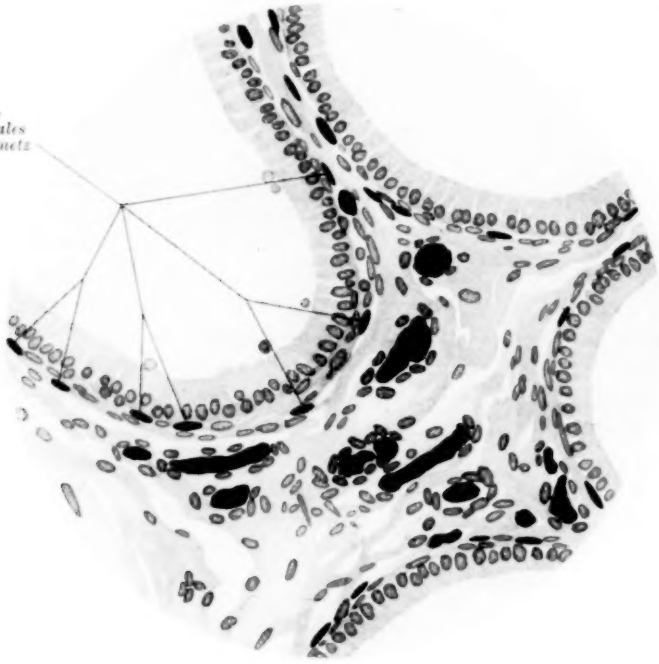


Abb. 6. Nebenhodenschweif vom Kaninchen. Supravitale Tuscheinjektion der Gefäße nach *Werner Schulze*. Kapillarnetz dicht unter dem Epithel in der Membrana propria. Vergr. 250/1.

und Umhüllung neuer Spermien mit Sekret während ihrer Wanderung und schließlich wieder ihre Bewegungshemmung automatisch zu vollziehen.

Diese auf das feinste stabilisierte Einrichtung kann bei der Fernhaltung von der Kohabitation natürlich auch die Grenze ihrer Leistungsfähigkeit erreichen. Dann steht dem Organismus die vasomotorische Regulation zur Verfügung. Es ist sicher anzunehmen, daß er sich auch schon bei den Vorbereitungen zur Kohabitation, wo vasomotorische Erscheinungen genügend bekannt sind, sich ihrer bedient, um die Spermien schon im Nebenhodenschweif zu Bewegungen zu

veranlassen. Alle Voraussetzungen sind dafür gegeben. Wie Heizschlangen umzieht ein feinstes Netz von Gefäßen den vielfach geschlängelten Nebenhodengang. Die Kapillaren liegen dicht unter dem Epithel in der Membrana propria und gewährleisten intensiven Gasaustausch und größte Wirksamkeit einer vasomotorischen Regulation (Abb. 6). Wie wir sahen, beginnt nach Ausstoßung des Ejakulats eine lebhafte Wanderung der Spermien durch den Nebenhodengang. Als Folge der Druckausgleichung nach der Ausstoßung der Spermienmassen in den distalen Partien beginnt eine neue Sekretionsphase. Die Atmung kann bei bester Durchblutung und leerem Lumen ungehindert stattfinden. Die sich ständig vorwärtsbewegenden Spermien nehmen nun durch die immer vollständiger werdende Hülle, die sie auf ihrer Reise erwerben, immer lebhafter ihre Eigenbewegung im optimalen Milieu auf, bis die Spermienmasse wieder aufgerückt ist und so dicht wird, daß die normale Blutzufuhr nur noch der Atmung gerecht werden kann, die als Mindestmaß für die Erhaltung des Lebens der Spermien ausreicht. Die ein Übermaß an Sauerstoff beanspruchende Bewegung wird, wie die Versuche in vitro bewiesen haben, gehemmt. Es liegt nun auf der Hand, daß dem Organismus durch Erweiterung und Verengerung der Gefäße die Beherrschung dieser Steuerung stets möglich ist, da die Aufwanderung der Spermien im Ductus deferens stets genau so dicht wird, daß die geringste Mehrzufuhr an Sauerstoff Wiederaufnahme der Bewegung zur Folge hat. Diese Steuerung ist so vollkommen, weil die Schwelle der Bewegungsmöglichkeit selbst die Aufwanderung im Ductus epididymidis reguliert. Die stärkere Durchblutung während und nach der Erektion wird genügen, auch die im Nebenhodenschweif unbewegten Spermien zur Bewegung zu entfachen.

Ich kann hierfür zwei entgegengesetzte Beispiele anführen: Ein gefäßloser Ductus epididymidis ist gewissermaßen die Nebenhodencyste, die mit Spermien vollgestopft ist und etwa den fünfzigfachen Durchmesser des Nebenhodenganges haben mag. Die aus solchen Cysten entnommenen und untersuchten Spermien waren stets abgestorben und verhielten sich wie unter völligem Luftabschluß in vitro gehaltene Spermien. Eine Einrichtung, die die Arbeit der Gefäße in potenziertem Maße fördert, fand ich beim Nebenhodenschweif vom Pferd. Hier wird die Analogie mit dem Darm vollständig. Es hängen lange Epithelzotten, die in Schnitten jeweils als ein von Spermien umgebener Ring imponieren, weit in das Lumen hinein (Abb. 7). Jede Zotte besteht aus Epithelkranz, Basalmembran, Muskulatur und einer eigenen zentralen Gefäßschlinge (Abb. 8). Durch die Zottenbildung wird den Spermien ein besserer Gasaustausch ermöglicht und gleichzeitig das Sekret mit den Spermien auf das Innigste vermischt. Die vasomoto-

rische Wirkung kann auch durch direkte Flüssigkeitsausschwitzung möglich sein, was einer Verdünnung und deren Folgen gleichkäme. Belege habe ich dafür nicht. Der durch *Atzler* und *Lehmann* (1) gezeigte Einfluß der ($H^{\cdot}$)-Konzentration auf den Kontraktionszustand der Blutgefäße (bei $p_H = 5$ Erweiterung, bei $p_H = 8$ „Laugenkontrak-

Abb. 7. Nebenhodenschweif vom Pferd. Azokarmin-Mallory-Heidenhain-Färbung. Zottenbildung im Nebenhodengang. Vergr. 96/1.

tur“ der Gefäße), bietet direkte Unterlagen für eine automatische Steuerung des Kontraktionszustandes auch im Nebenhodengang.

Die Gewebsflüssigkeiten und auch das Nebenhodensekret stellen Pufferflüssigkeiten dar, deren Pufferungsgrenze gewährleistet, daß die ($H^{\cdot}$)-Konzentration kein Maß erreicht, welches das Leben der Spermien gefährdet, wohl aber so gelegen ist, daß noch die Abwehrreaktion, vermehrte Durchblutung und Erweiterung des Lumens ausgelöst werden kann.

Der Nebenhodenschweif ist nun dank aller geschilderten Eigenschaften ein Organ für die Aufbewahrung jederzeit verwendungsbereiter Spermien: ein Sammelrohr. Um das zu zeigen, nahm ich drei Kaninchen im Oktober 1923 beide Hoden vollständig weg und ließ den Nebenhodenkopf und Nebenhodenschweif stehen. Ein operiertes Tier befruchtete nach zwei Monaten noch ein Weibchen, das zwölf Junge

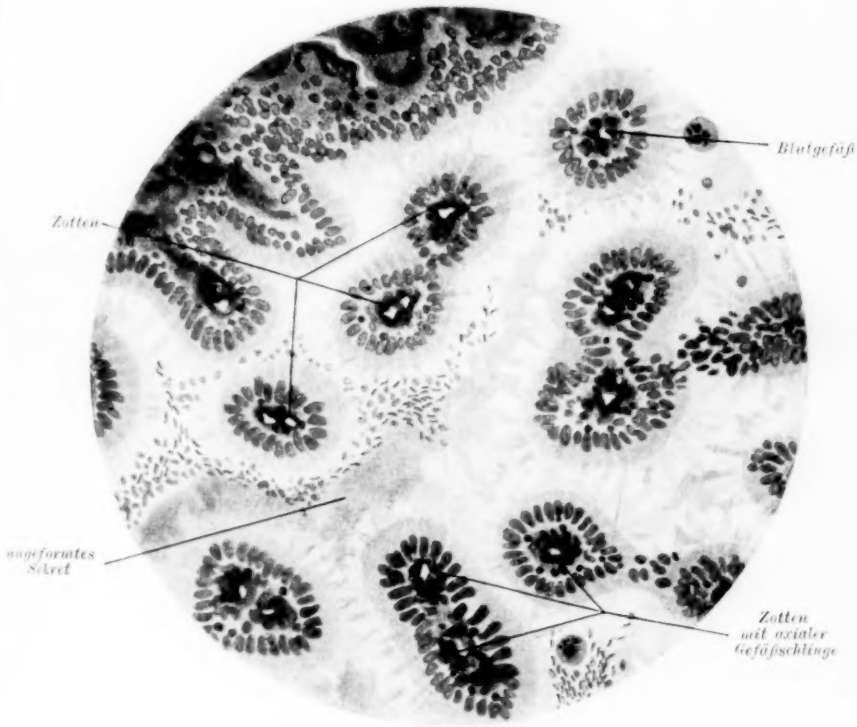


Abb. 8. Nebenhodenschweif vom Pferd. Abb. 7 stärker vergrößert. Querschnitte durch die Zotten mit zentraler Gefäßschlinge. Vergr. 550:1.

warf. Ebenso fand ich bei einem Hund, dem beide Hoden und Nebenhodenköpfe vor drei Monaten weggenommen worden waren, nach dieser Zeit noch spärlich bewegliche Spermien. Hodenreste können nicht zurückgeblieben sein, da bei Wegnahme des Nebenhodenkopfes keine Gefahr besteht, Hodengewebe stehen zu lassen. Die Abtrennung geht spielend leicht. Es muß bemerkt werden, daß die Spermien nur noch geringe Beweglichkeit besaßen. Viele Spermien hatten ihre Schwänze

verloren[1]). Aus der Literatur ist mir ein ähnlicher Fall bekannt, der das Ergebnis nicht einfach erscheinen läßt. *Régaud* (27) unterband einer Ratte die Ductus defferentes und beobachtete nach $7^1/_2$ Monaten Befruchtung. Histologisch wurde nicht nachuntersucht. Er schloß, daß die Spermien sich $7^1/_2$ Monate in den distalen Geschlechtswegen lebend erhalten haben. Der Einwand gegen meinen Versuch, daß sich die Spermien distal vom Nebenhoden lebend erhalten haben, ist also nicht von der Hand zu weisen.

Schlußsätze[2]).

I. Die Spermien werden bei der Passage des Nebenhodenganges von einer Sekrethülle umschlossen. Diese Hülle und die durch sie mitgeteilten Eigenschaften können die Spermien nicht durch einfaches Hinzufügen von Nebenhodensekret erwerben. Auf dem Weg durch den langen, vielfach gewundenen Gang wird jedes einzelne Spermium sorgfältig von Sekret umschlossen. Die Sekrethülle stellt das optimale Medium für die Bewegung dar und ermöglicht die Bewegung der Spermien bei Verdünnung mit neutralen Lösungen. Die Sekrethülle schützt die Spermien gegen eine die Bewegung ausschließende saure Reaktion, also im Genitale des weiblichen Organismus gegen das saure Scheidensekret, und ermöglicht Erhaltung der Bewegung in saurer Umgebung über kurze Zeit. Nach Vernichtung der Eigenschaften der Hülle oder Herauswaschen der Spermien aus der Hülle tritt das ursprüngliche Erregungsniveau wieder in Erscheinung. Das Nebenhodensekret stellt eine Pufferflüssigkeit dar.

II. Der ursprünglich im Nebenhodenkopf für den Ablauf der Bewegung völlig genügende Gasaustausch wird durch das im Nebenhodenschweif weitere Lumen auf einen Schwellenwert herabgedrückt, der eben die Bewegung hemmt und doch das Leben noch erhält. Hierdurch wird eine vasomotorische Regulation durch Aufheben der Bewegungshemmung erst möglich.

III. Nach Ausstoßung der Spermien vollzieht sich die Aufwanderung der Spermien in die distalen freigewordenen Teile, da der unbehinderte Gasaustausch jetzt die Bewegung zuläßt. Dabei erwerben die Spermien wieder ihre Sekrethülle. Durch die erneute Ansammlung setzt die automatische Steuerung ein, und die Bewegung kommt zum Stillstand.

IV. Der Nebenhodenschweif stellt ein Aufbewahrungsorgan für die Spermien dar, das ihren Lebensbedingungen und den Anforderungen

[1]) Nachtrag: Diese Versuche wurden durch eine Arbeit von *v. Lanz* (22) bestätigt. Auch die Ergebnisse meiner Operationen wurden schon veröffentlicht (siehe *Redenz*, Diskussionsbemerkung zum Vortrag *v. Lanz*).

[2]) Erstveröffentlichung in *Braus*, Lehrbuch der Anatomie **2**. 421 u. 457.

des Organismus an den Zustand der Spermien in weitgehendem Maße gerecht wird.

V. Es ist wahrscheinlich, daß durch das Pufferungsvermögen der Samenflüssigkeit im Nebenhodenschweif das Ansteigen der ($H^{\cdot}$)-Konzentration zu einer für das Leben der Spermien bedrohlichen Höhe verhindert wird und die Grenze der Nachgiebigkeit so gelegen ist, daß bei Anwachsen der Kohlensäurespannung dennoch die vasomotorische Regulation der Gefäße automatisch als Dilatation herbeigeführt wird.

VI. Die Beweglichkeit der Spermien ist eine dem Achsenfaden eigentümliche Eigenschaft. Die Auslösung der Bewegung ist von der ($H^{\cdot}$)-Konzentration abhängig. Die optimale ($H^{\cdot}$)-Konzentration für die Bewegungsauslösung überhaupt ist etwa $p_H = 8$. Die Sekrethülle muß ähnliche Bedingungen liefern.

VII. Die Spermien können unter anäroben Verhältnissen ihre Bewegung nicht aufrecht erhalten. Die für jede Stelle des Nebenhodenganges verschiedene augenblickliche Atmungsmöglichkeit stellt sich als eine Funktion der Weite des Lumens des Nebenhodenganges, des Kontraktionszustandes der Gefäße und der Spermiendichte dar.

VIII. Die Spermien legen den Weg durch den Nebenhodengang mit eigener Kraft zurück. Dies gewährleistet die intensive Durchmischung und selbsttätige Beladung der Spermien mit dem aus dem Wimperschopf quellenden Sekret.

IX. Die Bewegungsenergie ist so lange als unbegrenzt aufzufassen, als die Erhaltung des optimalen Milieus möglich ist. Dies ist bei der Vorwärtsbewegung im weiblichen Genitalkanal länger der Fall, als im Versuch, wo die Stoffwechselprodukte nicht weggeschafft werden können.

X. Das motorische Zentrum für die Lokomotion beim Spermium des Stieres stellt das Verbindungsstück dar.

XI. Die Lage des Protoplasmatropfens kann zur Unterscheidung von Nebenhodenkopfspermien und Nebenhodenschweifspermien verwandt werden.

XII. Die Bewegungsbilder kommen im ganzen Ductus epididymidis nach dem distalen Ende zunehmend vor und sind für einmal ausgeübte Eigenbewegungen charakteristisch.

XIII. Es kommen Einsprengungen von Epithelien der Ductuli efferentes beim Pferd in das Epithel des Nebenhodenganges vor, unter Beibehaltung der Pigmentbildung.

XIV. Im oberen Teil des Ductus epididymidis scheinen Resorptionsvorgänge abzulaufen.

XV. Die in den Basalzellen des Ductus epididymidis vom Stier, Ziegenbock und Eber vorkommenden Fettkörper sind als einfache Fette anzusprechen.

XVI. Die belebende Wirkung des alkalischen Prostatasekretes beruht auf dem Ersatz der Eigenschaften der Sekrethülle durch das Prostatasekret. Die Wirkung des Prostatasekretes ist der künstlichen Bewegungserregung der Hodenspermien durch Alkali gleichzusetzen. Das Prostatasekret hat die Fähigkeit, bei mehrmaligen Ejakulationen ausgestoßene Nebenhodenkopfspermien, die des Sekretmantels entbehren, zur vollen Bewegung zu entflammen. Das Prostatasekret wirkt „verdünnend". Es ermöglicht wie Kochsalz- oder alkalische *Lewis*-lösung den vollen Gaswechsel, den die Bewegung erfordert.

XVII. Die operative Entfernung der Nebenhoden kann bei gesicherter Funktion der Prostata ohne Verlust der Zeugungsfähigkeit ausgeführt werden, geht aber mit Sicherheit mit einer Minderung der Zeugungsfähigkeit einher.

Literaturverzeichnis.

1. *Atzler* u. *Lehmann*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **197**, Heft 1/3. 1923. — 2. *Brösicke*, Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **78**. 1912. — 3. *v. Brunn*, zit. nach *Retzius*. — 4. *Cody*, Anat. record vol. 253. Proc. of the Anatomist's. 1923. — 5. *Felton*, Journ. of biol. Chem. **46**. 1921. — 6. *Frank*, siehe bei *J. E. Schmidt*. — 7. *Fuchs*, Anat. Hefte **19**. 1902. — 8. *Goldschmidt*, Arch. f. Zellforsch. **14**. — 9. *M. Heidenhain* u. *F. Werner*, Zeitschr. f. d. ges. Anat. **72**, 3/6. 1924. — 10. *J. H. Hammar*, Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. Anat. Abt. 1897. — 11. *Hirokawa*, Biochem. Zeitschr. **19**, 291. 1907. — 12. *Kawamura*, Die Cholestearinesterverfettung. Fischer. 1911. — 13. *v. Lanz*, Vortrag Anatomentag Halle 1924. Verh. d. anat. Gesellsch. — 14. *L. Michaelis*, Die ($H^{\cdot}$)-Konzentration. Julius Springer, Berlin. 1922. — 15. *v. Möllendorff*, d. pers. Mitteilg. 1924. — 16. Ders., Diskussionsbemerkung zum Vortrag *v. Lanz*, Anatomentag Halle 1924. — 17. *Peter*, Anat. Anz. **15**. 1899. — 18. *Redenz*, in *Braus*, Lehrb. d. Anat. **2**, 421 u. 457. 1924. — Derselbe, Vhdlg. d. phys. med. Ges. Würzburg N. F. **49**, Hft. 3. — 19. Derselbe, Diskussionsbemerkung z. Vortrag *v. Lanz*, Anatomentag Halle 1924. — 20. *Rehfisch*, Dtsch. med. Wochenschr. S. 245. 1896. — 21. *J. E. Schmidt*, Bruhns Beitr. f. klin. Chir. **82**, 37. 1913. — 22. *G. Retzius*, Biol. Untersuchungen **14**. Fischer, Jena. 1909. — 23. *S. P. L. Sörensen*, Biochem. Zeitschr. **21**, 131. 1909. — 24. *Sorg*, Zeitschr. f. Konstitutionslehre **10**, 1. 1924. — 25. *Stigler*, Pflügers Arch. **171**, 1918. — 26. *Tournade* et *Régaud*, Cpt. rend. Assoc. anat. **13**, 252. 1911. — *Tournade* et *Delacarte*, Cpt. rend. Soc. biol. **74**, 861. Paris 1911.

Autorenverzeichnis.

Alberti, W., und *Politzer, G.* Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Zellteilung. II. Mitteilung. S. 284.

Brandt, W. Extremitätentransplantationen an *Triton taeniatus*. Ein experimenteller Beitrag zum Determinationsproblem. (1. Mitteilung.) S. 517.

Dauwart, Anna. Ein bis jetzt unbekanntes zyklisches Geschlechtsmerkmal der Batrachier. Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes des Frosches. S. 504.

Giersberg, H. Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. I. Furchung und Gastrulation bei *Rana* und *Triton*. S. 368.

—, — Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. II. Neurulation bei *Rana* und *Triton*. S. 387.

Giglio-Tos, Ermanno. Entwicklungsmechanische Studien. V. Teil: Die Furchung unter künstlichen Bedingungen. S. 206.

Gurwitsch, Alexander. Physikalisches über mitogenetische Strahlen. S. 490.

—, — und *Gurwitsch, Nina.* Fortgesetzte Untersuchungen über mitogenetische Strahlung und Induktion. S. 68.

Gurwitsch, Lydia. Untersuchungen über mitogenetische Strahlen. (Mit einem Beitrag von *Nina Gurwitsch.*) S. 483.

Gurwitsch, Nina, siehe *Gurwitsch, Alexander*, und *Gurwitsch, Nina.*

—, — siehe *Gurwitsch, Lydia.*

Hartmann, A., siehe *Pauli* und *Hartmann.*

Hirschler, Jan. Technische Hinweise zum operativen Vorgehen (Transplantation, Implantation u. a.) an Amphibien- und Insektenlarven. S. 357.

Koffman, M. Über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Encystierung bei einigen Ciliatenarten. S. 168.

Kuntschik, Robert, und *Salzer, Georg.* Pancreasläppchen in der Milz einer jungen Katze. S. 430.

Milojević, Borivoje Dim. Beiträge zur Frage über die Determination der Regenerate. (Vorläufige Mitteilung.) S. 80.

Müller, Edmund. Untersuchungen über die durchbohrenden Knochenkanäle. S. 308.

Nassonov, Dimitry. Der Exkretionsapparat (kontraktile Vakuole) der Protozoa als Homologon des Golgischen Apparats der Metazoazellen. S. 437.

Pauli, W. E., und *Hartmann, A.* Über die Wirkung von Kathodenstrahlen auf lebendes Gewebe. S. 95.

Politzer, G., siehe *Alberti* und *Politzer.*

Polowzow, Wera. Über die Wirkung der Alkoholnarkose auf die Entwicklung der Seeigeleier. II. Teil: Polysyncytien. S. 1.

Redenz, Ernst. Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. S. 593.

Reinhard, Leonid. Die Entwicklung des Parablasts und seine Bedeutung bei Teleostiern nebst der Frage über die Entstehung der Urgeschlechtszellen. S. 339.

Salzer, Georg, siehe *Kuntschik* und *Salzer.*

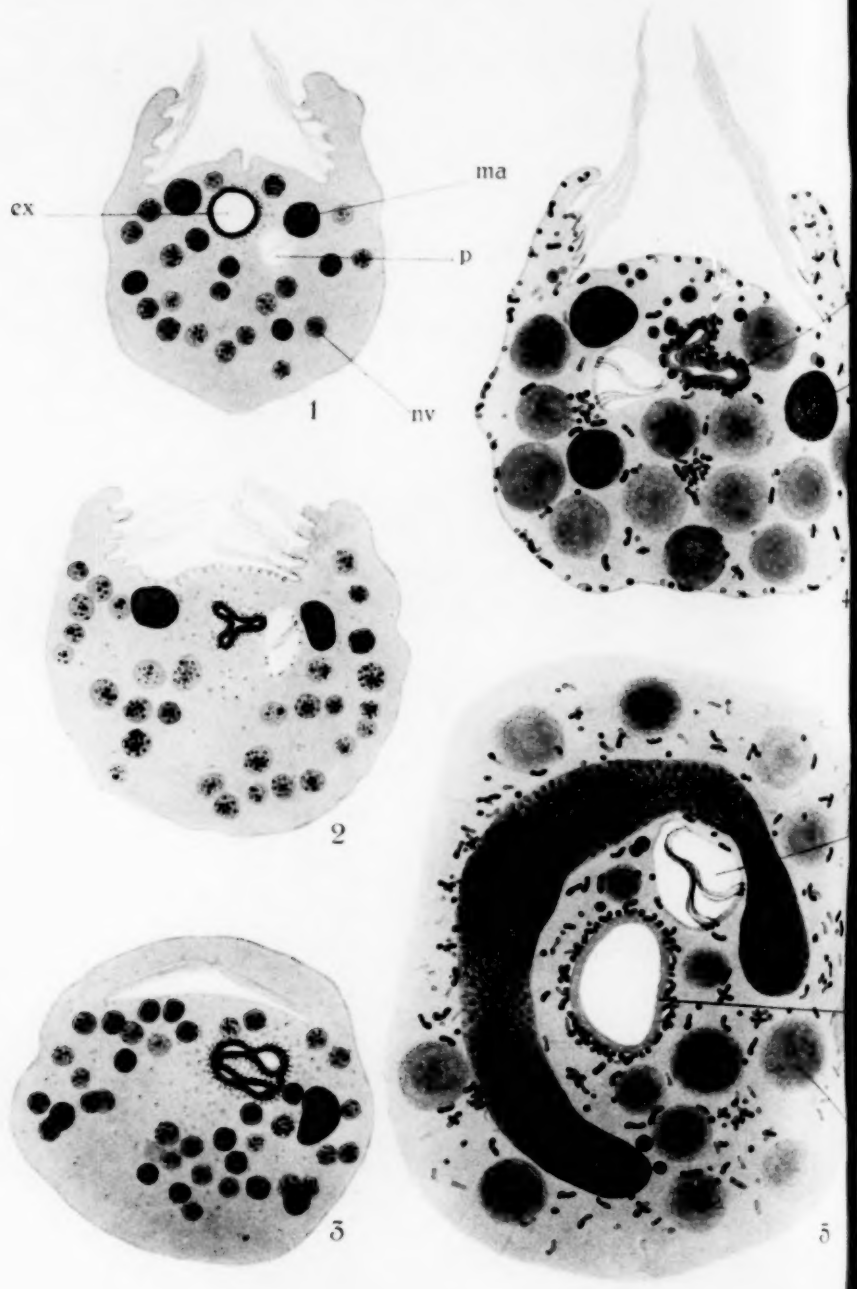
Schiller, Ignaz. Vererbung und Immunität. S. 182.

Schukowsky, D. E. Die Beschaffenheit der Zelloberfläche als bestimmender Faktor des Zustandekommens der Zellteilung. S. 499.

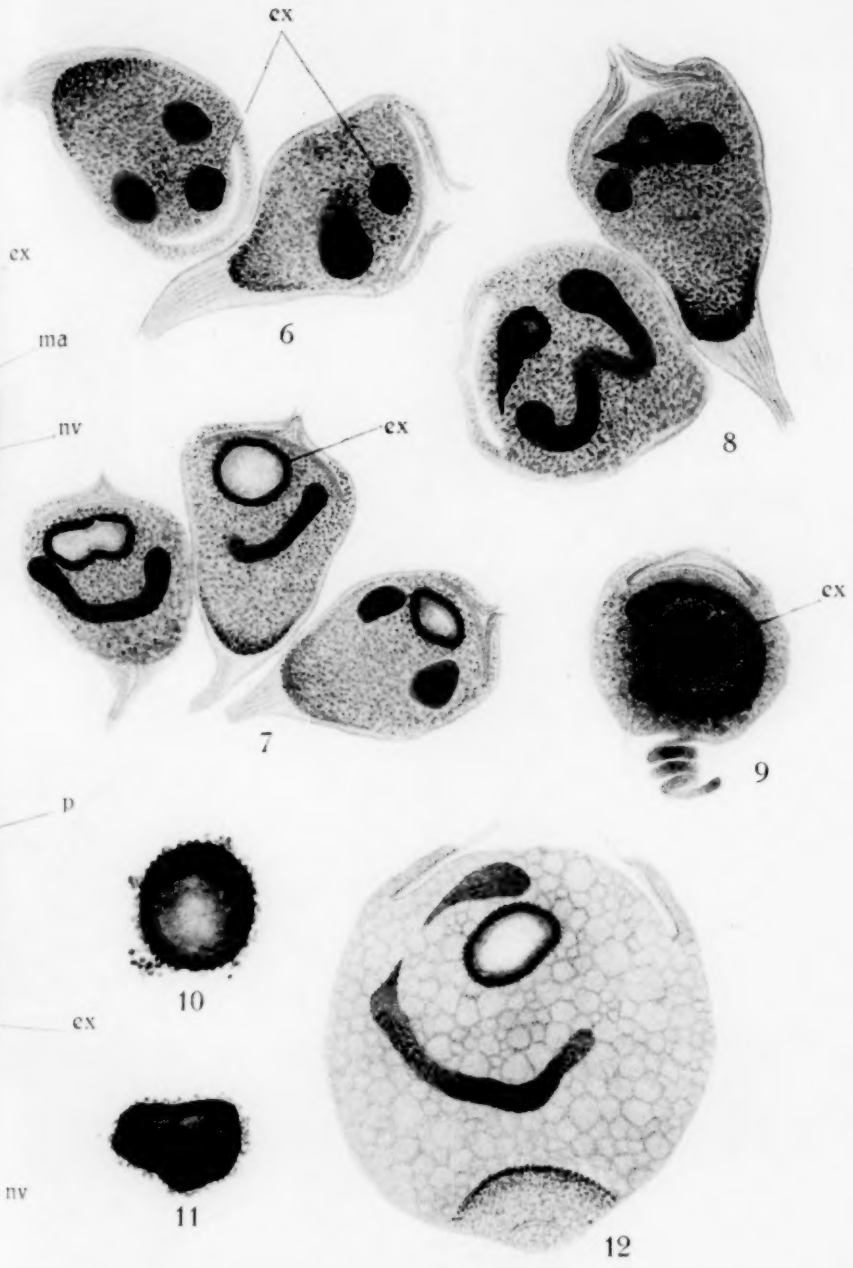
Sokólska, Julja. Über Ausbleiben der Teilung, respektive über ungleiche Teilung des Golgischen Apparates während der Spermatogenese bei der Hausspinne (*Tegenaria domestica* Cl.). S. 425.

Sternberg, H. Über Transplantation des Ohrbläschens bei Froschlarven. S. 259.

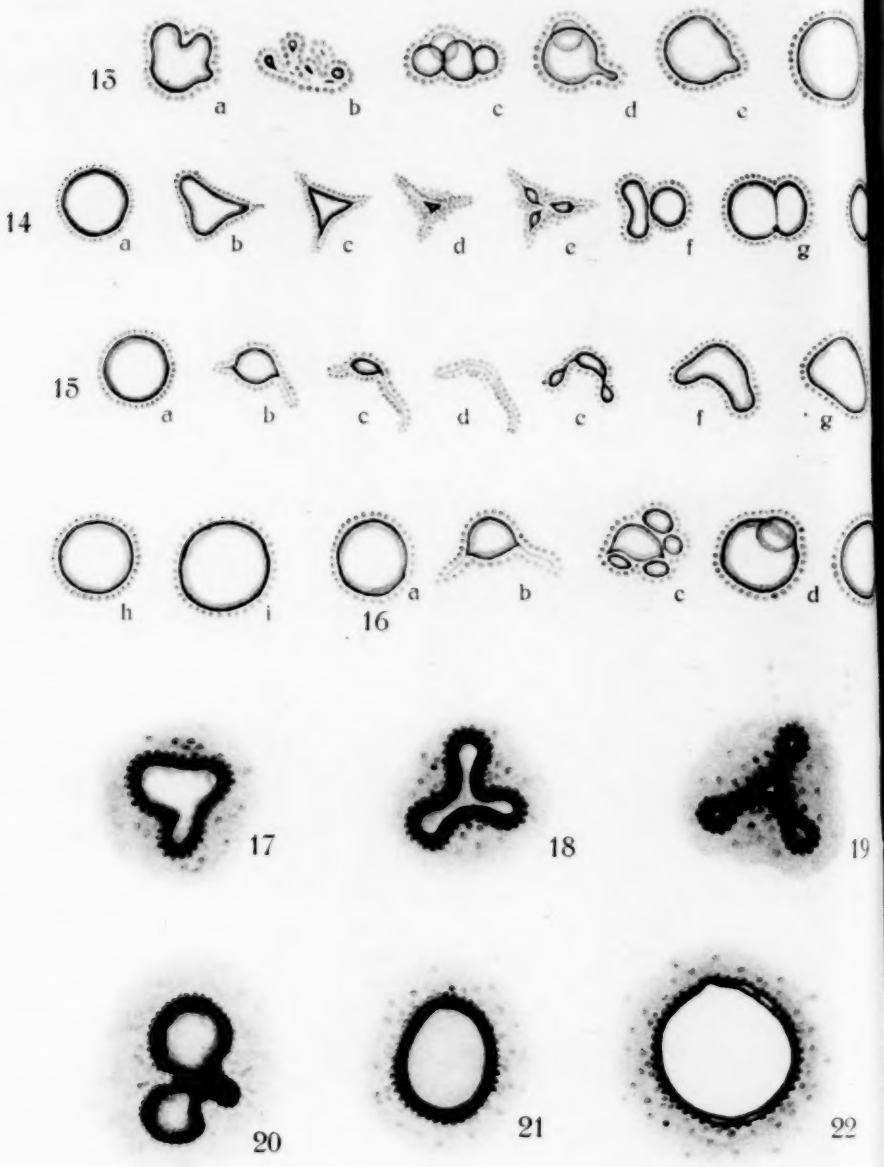
Stöhr jr., Ph. Experimentelle Studien an embryonalen Amphibienherzen. II. Über Transplantation embryonaler Amphibienherzen. S. 555.



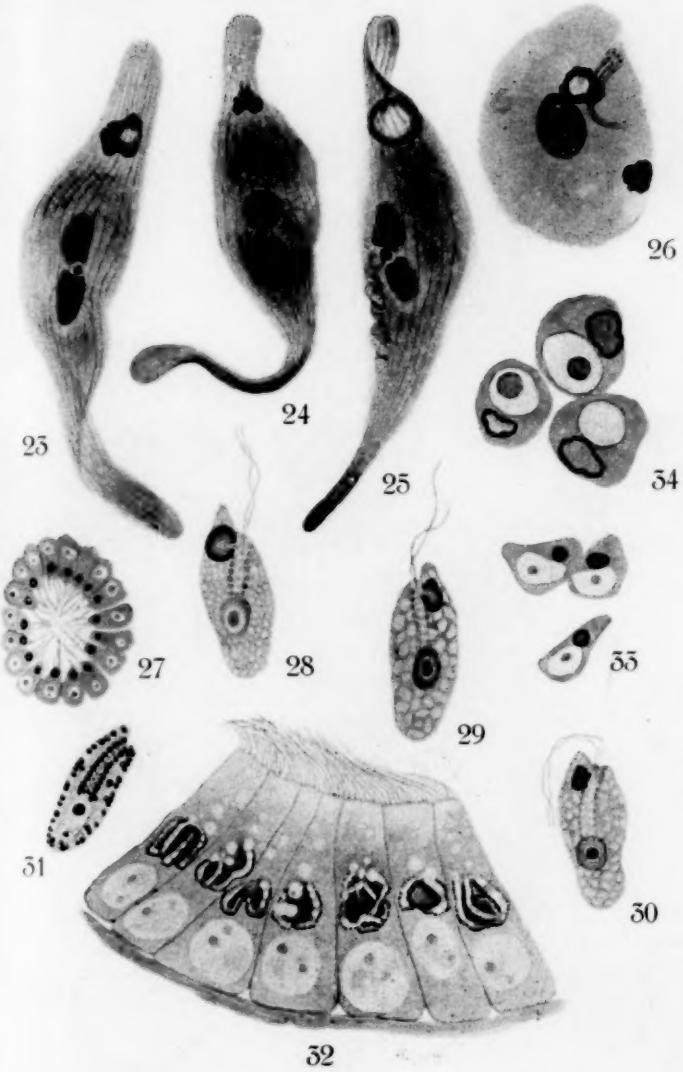
Nassonov, Exkretionsapparat der Protozoa.



Verlag von Julius Springer in Berlin



Nassonov, Exkretionsapparat der Protozoa

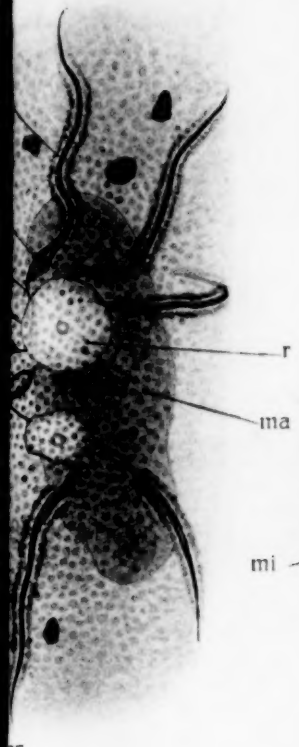


Verlag von Julius Springer in Berlin

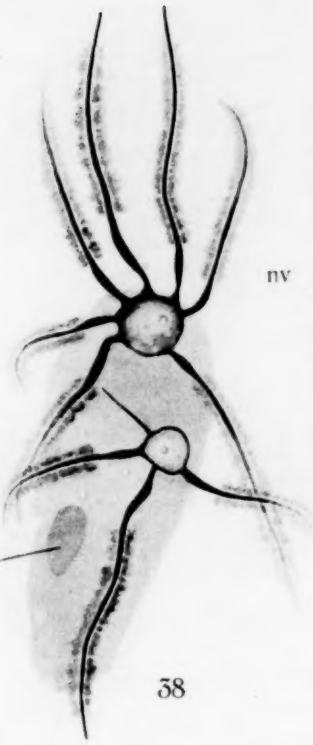
35

36

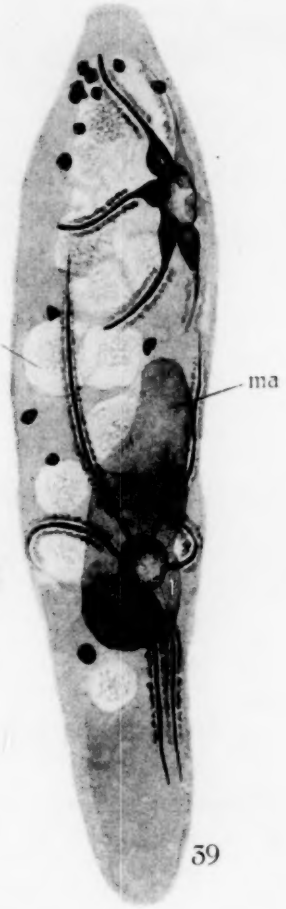
40



37

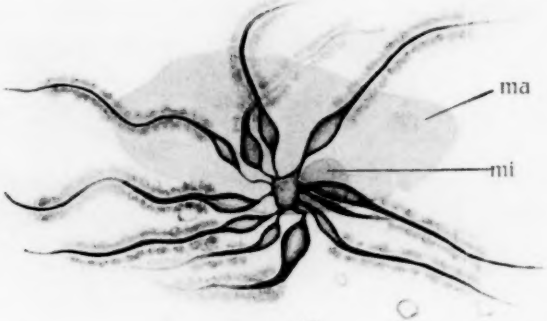


38



39

41



42

Verlag von Julius Springer in Berlin

Seite

Reinhard, Leonid, Die Entwicklung des Parablasts und seine Bedeutung bei Teleostiern nebst der Frage über die Entstehung der Urgeschlechtszellen. Mit 11 Textabbildungen 339

Hirschler, Jan, Technische Hinweise zum operativen Vorgehen (Transplantation, Implantation u. a.) an Amphibien- und Insektenlarven 357

Giersberg, H., Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. I. Furchung und Gastrulation bei Rana und Triton. Mit 10 Textabbildungen 368

Giersberg, H., Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. II. Neurulation bei Rana und Triton. Mit 21 Textabbildungen 387

Sokólska, Julja, Über Ausbleiben der Teilung, respektive über ungleiche Teilung des Golgischen Apparates während der Spermatogenese bei der Hausspinne (Tegenaria domestica Cl.). Mit 14 Textabbildungen 425

Kuntschik, Robert und **Georg Salzer,** Pancreasläppchen in der Milz einer jungen Katze. Mit 3 Textabbildungen 430

Nassonov, Dimitry, Der Exkretionsapparat (kontraktile Vakuole) der Protozoa als Homologon des Golgischen Apparats der Metazoazellen. Mit Tafel I—III und 2 Textabbildungen. 437

Gurwitsch, Lydia, Untersuchungen über mitogenetische Strahlen. (Mit einem Beitrag von Nina Gurwitsch.) Mit 1 Textabbildung 483

Gurwitsch, Alexander, Physikalisches über mitogenetische Strahlen. Mit 1 Textabbildung 490

Schukowsky, D. E., Die Beschaffenheit der Zelloberfläche als bestimmender Faktor des Zustandekommens der Zellteilung. Mit 2 Textabbildungen 499

Dauwart, Anna, Ein bis jetzt unbekanntes zyklisches Geschlechtsmerkmal der Batrachier. Saisonvariation des Vorderextremitätenskelettes des Frosches. Mit 1 Textabbildung 504

Brandt, W., Extremitätentransplantationen an Triton taeniatus. Ein experimenteller Beitrag zum Determinationsproblem. (1. Mitteilung.) Mit 16 Textabbildungen. 517

Stöhr, Ph. jr., Experimentelle Studien an embryonalen Amphibienherzen. II. Über Transplantation embryonaler Amphibienherzen. Mit 26 Textabbildungen 555

Redenz, Ernst, Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. Mit 8 Textabbildungen 593

Autorenverzeichnis 629

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN W9

Enzyklopädie der klinischen Medizin

Die Erkrankungen der Milz, der Leber, der Gallenwege und des Pankreas

Bearbeitet von

H. Eppinger O. Groß N. Guleke H. Hirschfeld E. Ranzi

Soeben erschien:

Die Erkrankungen des Pankreas

Von

Dr. O. Groß und **Dr. N. Guleke**

a. o. Professor an der Universität Greifswald und Chefarzt der Med. Abteilung des Bürger-Hospitals in Saarbrücken

o. ö. Professor und Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik in Jena

391 Seiten mit 66 zum großen Teil farbigen Textabbildungen

27 Goldmark; geb. 33 Goldmark / 6,45 Dollar; geb. 7,90 Dollar